

РСТ

ВСЕМИРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
Международное бюро



МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В СООТВЕТСТВИИ
С ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

<p>(51) Международная классификация изобретения ⁶: A61K</p>	<p>A2</p>	<p>(11) Номер международной публикации: WO 99/01103 (43) Дата международной публикации: 14 января 1999 (14.01.99)</p>
<p>(21) Номер международной заявки: PCT/RU98/00215 (22) Дата международной подачи: 3 июля 1998 (03.07.98) (30) Данные о приоритете: 97111091 4 июля 1997 (04.07.97) RU (71)(72) Заявитель и изобретатель: НЕБОЛЬСИН Владимир Евгеньевич [RU/RU]; 607190 Саров, Нижегородская обл., ул. Шверника, д. 15а, кв. 25 (RU) [NEBOLSIN, Vladimir Evgenievich, Sarov (RU)]. (72) Изобретатели; и (75) Изобретатели / Заявители (только для US): ЖЕЛТУХИНА Галина Александровна [RU/RU]; 129344 Москва, ул. Искры, д. 13, корп. 1, кв. 292 (RU) [ZHELTUKHINA, Galina Alexandrovna, Moscow (RU)]. ЕВСТИГНЕЕВА Рима Порфирьевна [RU/RU]; 119121 Москва, Ростовская наб., д. 3, кв. 9 (RU) [EVSTIGNEEVA, Rima Porfirievna, Moscow (RU)].</p>		<p>(74) Агент: «СОЮЗПАТЕНТ»; 103735 Москва, ул. Ильинка, д. 5/2 (RU) [«SOJUZPATENT», Moscow (RU)]. (81) Указанные государства: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, евразийский патент (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), европейский патент (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), патент ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), патент OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Опубликована Без отчёта о международном поиске и с повторной публикацией по получении отчёта.</p>
<p>(54) Title: PEPTIDE DERIVATIVES OR PHARMACEUTICALLY ACCEPTABLE SALTS THEREOF, METHOD FOR PRODUCING THE SAME, USE OF SAID DERIVATIVES AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION (54) Название изобретения: ПРОИЗВОДНЫЕ ПЕПТИДОВ ИЛИ ИХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИ ПРИЕМЛЕМЫЕ СОЛИ, СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ, ПРИМЕНЕНИЕ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ</p> $ \begin{array}{c} R_1-(CH_2)_n-CONH-CH-(CH_2)_m-R_3 \\ \\ R_2 \end{array} \quad (I) $ <p>(57) Abstract</p> <p>The present invention relates to peptide derivatives of general formula (I) as well as to pharmaceutically acceptable salts thereof. This invention also relates to the use of said derivatives as agents which have an anti-oxidising, anti-asthmatic, anti-hypoxy, anti-inflammatory, anti-viral, anti-bacterial, lipid-regulating, anti-tumoral, anti-metastatic, glucide-reducing or adaptogenous activity as well as other types of therapeutic activities. This invention also relates to a method for producing these derivatives, as well as to a pharmaceutical composition or a cosmetic product that contain as an active agent the peptide derivatives of general formula (I) or the pharmaceutically or cosmetically acceptable salts thereof. This invention also relates to a therapeutic or prophylactic method against various conditions.</p>		

Производные пептидов общей формулы
или их фармацевтически приемлемые соли, их применение в качестве агентов, обладающими антиоксидантным, противоастматическим, антигипоксическим, противовоспалительным, противовирусным, антибактериальным, липидрегулирующим, противоопухолевым, антиметастатическим, сахаропонижающим, адаптогенным и другими видами терапевтического действия, способ их получения, фармацевтическая композиция или косметическое средство, включающие в качестве активного агента производное пептида формулы (I) или его фармацевтически или косметически приемлемые соли, а также способ лечения или предотвращения заболеваний.

ИСКЛЮЧИТЕЛЬНО ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИНФОРМАЦИИ

Коды, используемые для обозначения стран-членов РСТ на титульных листах брошюр, в которых публикуются международные заявки в соответствии с РСТ.

AL	Албания	GE	Грузия	MR	Мавритания
AM	Армения	GH	Гана	MW	Малави
AT	Австрия	GN	Гвинея	MX	Мексика
AU	Австралия	GR	Греция	NE	Нигер
AZ	Азербайджан	HU	Венгрия	NL	Нидерланды
BA	Босния и Герцеговина	IE	Ирландия	NO	Норвегия
BB	Барбадос	IL	Израиль	NZ	Новая Зеландия
BE	Бельгия	IS	Исландия	PL	Польша
BF	Буркина-Фасо	IT	Италия	PT	Португалия
BG	Болгария	JP	Япония	RO	Румыния
BJ	Бенин	KE	Кения	RU	Российская Федерация
BR	Бразилия	KG	Киргизстан	SD	Судан
BY	Беларусь	KP	Корейская Народно-Демократическая Республика	SE	Швеция
CA	Канада	KR	Республика Корея	SG	Сингапур
CF	Центрально-Африканская Республика	KZ	Казахстан	SI	Словения
CG	Конго	LC	Сент-Люсия	SK	Словакия
CH	Швейцария	LI	Лихтенштейн	SN	Сенегал
CI	Кот-д'Ивуар	LK	Шри-Ланка	SZ	Свазиленд
CM	Камерун	LR	Либерия	TD	Чад
CN	Китай	LS	Лесото	TG	Того
CU	Куба	LT	Литва	TJ	Таджикистан
CZ	Чешская Республика	LU	Люксембург	TM	Туркменистан
DE	Германия	LV	Латвия	TR	Турция
DK	Дания	MC	Монако	TT	Тринидад и Тобаго
EE	Эстония	MD	Республика Молдова	UA	Украина
ES	Испания	MG	Мадагаскар	UG	Уганда
FI	Финляндия	MK	Бывшая югославская Республика Македония	US	Соединенные Штаты Америки
FR	Франция	ML	Мали	UZ	Узбекистан
GA	Габон	MN	Монголия	VN	Вьетнам
GB	Великобритания			YU	Югославия
				ZW	Зимбабве

ПРОИЗВОДНЫЕ ПЕПТИДОВ ИЛИ ИХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИ ПРИЕМЛЕМЫЕ СОЛИ,
5 СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ, ПРИМЕНЕНИЕ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ

Описание

Настоящее изобретение относится к области биоорганической химии и, в частности, касается новых дипептидных и
10 псевдодипептидных соединений, имеющих в своем составе гетероциклическую, например, имидазольную или индольную группу, способа получения этих и известных соединений подобного строения, а также их применения в медицине в качестве
15 потенциальных лекарственных средств.

Предшествующий уровень техники

Известно, что вещества пептидной природы обладают высокой биологической активностью. В литературе описаны различные аспекты действия этих соединений: на иммунную систему,
20 высвобождение гистамина из перитонеальных тучных клеток крыс и базофилов человека [Marone G., Columbo N., Soppeisa L. et al.// J. Immunol.- 1984.- v.133.- №3.- pp. 1542-1546; Wise J., Wojtecka-Lukasik E., Maslinski S.// Agents Actions.- 1986.- v.18.- № 1-2. - pp. 262-265], продукцию и катаболизм
25 простагландина E₂ [Duchateau J., Bolla K.// Med. Oncol. and Tumor Pharmacother.- 1989.- v.6.- №6.- pp. 19-23], развитие аллергических реакций немедленного типа [8. Muller E., Sonnenschein B.// Naturamed.- 1989.- v. 4.- № 4.- pp. 34-38].

Общим звеном в патогенезе большого круга патологических
30 состояний (стресс, физическая нагрузка, радиация, аллергические заболевания, атеросклероз и сопутствующие заболевания, поражение печени различной этиологии, сахарный диабет и другие) является гипоксия. Известно, что при гипоксии повышается перекисное окисление липидов (ПОЛ), снижается содержание цитохрома P-450 и
35 активность P-450-зависимых ферментов [Proulx M., Dusouich P.// J. Pharm. Pharmacol.- 1995.- vol. 47.- Iss 5.- pp. 392-397;

Barakat M., du Souich P. // J. Pharm. Pharmacol.- 1996.- vol. 48.- pp. 906-910]. При этом повышается активность супероксид-дисмутазы и снижается содержание в печени глутатиона и активность глутатионпероксидазы. Эти изменения приводят к
5 повышению количества реактивных радикалов кислорода, которые могут повреждать мембраносвязанные ферменты, в частности, ферменты системы цитохрома P-450 [Proulx M., Dusouich P.// J. Pharm. Pharmacol.- 1995.- vol. 47.- Iss 5.- pp. 392-397]. ПОЛ -
важный физиологический процесс, постоянно протекающий в
10 клеточной мембране и в норме играющий важную роль в жизнедеятельности клеток, например при биосинтезе простагландинов, лейкотриенов, а также при фагоцитозе [Соколов Е. И. Сахарный диабет и атеросклероз.- М.- Наука.- 1996.- 405с.]. Однако на фоне развившейся тканевой гипоксии этот
15 процесс становится плохо управляемым и образуется большое количество свободно-радикальных соединений, которые не успевают нейтрализоваться. Развитие ацидоза сопровождается индукцией цитохрома P-450 2E1, который проявляет выраженную активность при образовании пероксидов липидов, что в еще большей степени
20 способствует повышению ПОЛ [Bestervelt L.L., Vaz A.D.N., Coon M.J.// Proc. Nat. Acad. Sci. USA.- 1995.- Vol. 92.- Iss 9.- pp. 3764-3768]. Нормализация ПОЛ может служить важным критерием при лечении названных заболеваний.

Известно, что изменение состояния системы цитохрома P-450
25 печени тесно связано с ее антиоксидантной функцией. Изучение данного вопроса имеет прикладной характер, так как при многих заболеваниях (атеросклероз, цирроз, гепатит, алкоголизм и другие) происходит разбалансировка обмена липидов и как следствие этого повышается перекисное окисление липидов (ПОЛ).

30 Показано, что развитие экспериментальных аллергических реакций формируется на фоне снижения содержания терминальной оксигеназы и дестабилизированного состояния компонентов монооксигеназной системы печени, оцениваемого по обновляемости цитохромов ν_5 и P-450 [Кржечковская В.В., Мальцев Г.Ю., Марокко
35 И.Н.// 4-й Всесоюз. симп. по мед. энзимологии.- 1983.- с.137]. Изменение содержания и соотношения групп цитохромов P450B и

- P450Л печени коррелирует с изменением длительности гексеналового сна, гормонального статуса и тяжестью проявлений анафилактического шока у морских свинок [Марокко И.Н., Кржечковская В.В., Маликова Н.А., Изотов М.В., Бенедиктова С.А., Спиридонова С.М.// Бюлл. эксп. биол. мед.- 1991.- №8.- с. 200-202.]. Активация ферментов системы цитохрома Р-450 индукторами типа фенобарбитала приводит к ослаблению тяжести проявлений экспериментальных аллергических реакций [Марокко И.Н., Кржечковская В.В., Маликова Н.А., Изотов М.В., Бенедиктова С.А., Спиридонова С.М.// Бюлл. эксп. биол. мед.- 1991.- №8.- с. 200-202.]. В то же время при введении сенсibilизированным животным метирапона, ингибитора системы цитохрома Р-450 и синтеза кортизола, отмечается усиление бронхоспазма [Fornhem C., Kumlin M., Lundberg J.M., Alving K.// Eur. Resp. J.- 1995.- vol. 8.- Iss 7.- pp. 1100-1109; Fornhem C., Lundberg J.M., Alving K.// Eur. Resp. J.-1995.-vol. 8.- Iss 6.- pp. 928-937.]. Состояние сенсibilизации у людей и у экспериментальных животных сопровождается снижением содержания глюкокортикоидов в крови и в моче. Нормализация количества гормонов коры надпочечников приводит к улучшению клинической картины заболевания у людей и снижению тяжести проявлений аллергической реакции у животных [Марокко И.Н., Кржечковская В.В., Маликова Н.А.//Матер. Всес. конф. «Цитохром Р-450 и модификация макромолекул».-Ялта.- 1989.- с. 339; Мачарадзе Д.Ш., Марокко И.Н., Балаболкин И.И., Юхтина Н.В., Маликова Н.А.// Педиатрия.- 1994.- №3.- с. 9-12.], а снижение их количества - к их усилению [Fornhem C., Kumlin M., Lundberg J.M., Alving K.// Eur. Resp. J.- 1995.- vol. 8.- Iss 7.- pp. 1100-1109; Fornhem C., Lundberg J.M., Alving K.// Eur. Resp. J.-1995.-vol. 8.- Iss 6.- pp. 928-937.].
- Метаболиты арахидоновой кислоты (АК), образующиеся в системе цитохрома Р450 обладают рядом важных биологических эффектов, в частности, сосудо- и бронхорасширяющим [Knickle L.C., Bend J.R.// Mol. Pharmacol.- 1994.- vol. 45.- Iss 6.- pp. 1273-1280; Quiroga J., Prieto J.// Pharmacol. Therap.- 1993.- vol.58.- Iss1.- pp. 67-91; Ma Y.H., Gebremedhin D., Schwartzman M.L. et al. // Circulation Research.- 1993.- vol.72.- Iss 1.-

pp. 126-136], цитопротективным действием [; Quiroga J., Prieto J.// Pharmacol. Therap.- 1993.-vol.58.- Iss1.- pp. 67-91], потенцируют синтез простагландинов E₂ [Carroll M.A., Balazy M., Margiotta P., Falck J.R., Mcgiff J.C.// J. BIOL. CHEM. -1993.-
5 vol. 268.- Iss 17.- pp. 12260-12266; Sakairi Y., Jacobson H.R., Noland T.D., Capdevila J.H., Falck J.R., Breyer M.D.// AMER. J. PHYSIOL-RENAL. FL. ELECT. - 1995.- Vol. 37.- Iss 5.- pp. F931-F939] и другими. Причем сосудорасширяющее действие АК потенцируется введением фенобарбитала, известного индуктора
10 монооксигеназной системы печени [Oyekan A.O. // Eur J Pharmacol.- 1995.- vol. 277.- Iss 2-3.- pp. 123-132]. При этом P-450-зависимый метаболит АК - 5,6-эпоксизэйкозатриеновая кислота (5,6-EET) потенцирует синтез и секрецию ПГЕ₂ [Sakairi Y., Jacobson H.R., Noland T.D., Capdevila J.H., Falck J.R., Breyer
15 M.D.// Amer. J. Physiol-Renal.Fl. Elect. - 1995.- Vol. 37.- Iss 5.- pp. F931-F939.]. ПГЕ₂ ингибирует анафилактический выброс гистамина и других медиаторов аллергии и воспаления из тучных клеток, с одной стороны. С другой, гистамин потенцирует синтез ПГЕ₂, что рассматривается как один из механизмов обратной связи
20 при аллергических и воспалительных реакциях.

Особое значение в развитии аллергических заболеваний имеет изменение протекания патохимической стадии аллергических реакций, которая в значительной степени определяется состоянием
25 клеток-мишеней аллергии 1-го порядка (базофилов и тучных клеток), важной особенностью которых является способность к накоплению и синтезу биологически активных соединений, в частности, гистамина. При IgE- и/или IgG-опосредованном ответе на антиген именно эти клетки участвуют в секреции активных веществ и определяют протекание патохимической фазы и степень
30 выраженности клинической картины аллергии [Паркер Ч.В./ Медиаторы: высвобождение и функции. // В кн.: Иммунология. Под редакцией У. Пола.- М.- Мир.- 1989.- т.3.- с.170-247; Chakravarty N.K.// In: The mast cell: Its role in health and disease. ed. J Pepys.- 1979.- p. 38-46]. Важность изучения
35 секреции гистамина тучными клетками определяется также тем фактом, что в тучных клетках присутствует фермент -

трансглутаминаза (ЕС 2.3.2.13), осуществляющий синтез белок-связанного гамма-глутамилгистамина, близкого аналога предлагаемых соединений. Показано, что стимуляция тучных клеток вызывает повышение активности трансглутаминазы и содержание
5 белок-связанного гамма-глутамилгистамина в тучных клетках [Fesus L., Szucs E., Barrett K. et al. // J. Biol. C. Chem.- 1985.- № 25.- pp. 13771-13778].

Показано, что при заболеваниях печени, например, при гепатите и циррозе снижается функциональная активность системы
10 цитохрома P-450 печени и повышается ПОЛ [Imaoka S., Sugiyama T., Taniguchi N., Funae Y.// CARCINOGENESIS.- 1993.- vol.14.- Iss 1.- pp. 117-121; Debinski H.S., Lee C.S., Danks J.A., Mackenzie P.I., Desmond P.V.// GASTROENTEROLOGY.- 1995.- vol. 108.- Iss 5.- pp. 1464-1469]. Характерные для данных патологий изменения
15 структуры и функций печени отмечаются у экспериментальных животных при введении четыреххлористого углерода (CCl₄). Действие этого вещества связано с повреждением мембранных структур клеток вследствие повышения ПОЛ, что является одним из факторов инактивации ферментов системы цитохрома P450 печени
20 [Kapil A., Koul I.B., Suri O.P.// Phytother. Res.- 1995.- vol. 9.- Iss 3.- pp.189-193].

Изменение метаболизма липидов при атеросклерозе взаимосвязано с изменением состояния системы цитохрома P450 [Wolfgang GHI, Robertson DG, Welty DF, Metz AL// FUND APPL
25 TOXICOL.- 1995.- vol. 26.- Iss 2.- pp. 272-281; Remaley A.T., Schumacher U.K., Amouzadeh H.R., Brever H.B., Hoeg J.M. // J LIPID RES.- 1995.- vol. 36.- Iss 2.- pp. 308-314; Stegeman J.J., Hahn M.E., Weisbrod R., Woodin B.R., Joy J.S., Najibi S., Cohen R.A. // MOL PHARMACOL.- vol. 47.- Iss 2.- pp. 296-306].
30 Известно, что наиболее частым проявлением атеросклероза является ишемическая болезнь сердца, стоящая на первом месте в ряду причин смертности взрослого населения планеты. Одним из ведущих нарушений при данном заболевании признано нарушение липидного обмена, выражающееся в повышении содержания в плазме крови
35 холестерина в составе липопротеинов низкой (ЛПНП) и очень низкой плотности (ЛПОНП), получивших название «атерогенных», с

одновременным снижением количества «антиатерогенных» липопротеинов высокой плотности (ЛПВП).

Показано, что изменение содержания и соотношения липидов в плазме отражает их изменения в мембранных структурах паренхиматозных органов. Состав мембран клетки, например, микросомальных, прямо зависит от состава рациона экспериментальных животных [Wade A., Harred W. // Feder. Proct.- 1976.- vol. 55.- pp. 2475-2479]. Введение животным холестерина вызывает накопление его в мембранах клеток, уменьшая ее текучесть, что, в свою очередь, приводит к изменению функционального состояния ферментов [Buters J.T.M., Zysset T., Reichen J. // Biochem.Pharmacol.- 1993.- vol. 46.- Iss 6.- pp. 983-991; Reichen J., Buters J.T.M., Sojcic Z., Roos F.J. // Experientia.- 1992.- Vol. 48.- Iss 5.- pp. 482-486; Татонь Я.Н. Ожирение. патофизиология, диагностика, лечение. - Варшава.- Польское Медицинское издательство. - 1981.- 364 с.]

Показано, что при инсулинзависимом диабете наряду с нарушением углеводного обмена выражено изменение метаболизма кетонов и жирных кислот, что приводит к разбалансировке системы микросомальных монооксигеназ печени и способствует еще большему нарушению гормонального статуса организма [Shimojo N., Ishizaki T., Imaoka S., Funae Y., Fujii S., Okuda K. // BIOCHEM PHARMACOL.- 1993.- vol. 46.- Iss 4.- pp. 621-627]. При этом наблюдается изменение метаболизма липидов, которое выражено в повышении холестерина во фракциях ЛПНП и ЛПОНП и снижении холестерина во фракции ЛПВП, а также значительном повышении перекисного окисления липидов [Соколов Е. И. Сахарный диабет и атеросклероз.- М.- Наука.- 1996.- 405с.]. Причем изменения обмена липидов при сахарном диабете практически полностью совпадают с изменениями при атеросклерозе. Одним из важнейших показателей стабилизации патологического процесса при диабете является содержание глюкозы в крови. Известно, что практически все антидиабетические препараты снижают содержание глюкозы в крови не только у больных диабетом, но и здоровых людей.

Важным звеном в поддержании гомеостаза внутренней среды организма является фагоцитоз. Фагоцитирующие клетки представлены

в организме в большом количестве. К ним, в частности, относятся нейтрофилы периферической крови и макрофаги (МФ). Активация МФ является одним из адаптивных механизмов гомеостаза, способствующих элиминации патогенов, и противоопухолевой резистентности [Иммунология.- под ред. Пола У.- М.- Мир.- 1989.- т. 3.- с.202-228; Пальцев М. А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия.- М.- Медицина.- 1995.- 224с.]. Известно, что эти клетки несут на внешней мембране глюкокортикоидные рецепторы [Маянский А.Н., Пикуза О.И. Клинические аспекты фагоцитоза. Казань.- «МАГАРИФ».- 1993.-192с.]. Одним из механизмов активации нейтрофилов и МФ является повышение содержания глюкокортикоидных гормонов.

Выброс гормонов коры надпочечников в кровь служит сигналом к мобилизации нейтрофилов из костного мозга, что является механизмом, сопрягающим костный мозг со стресс-лимитирующими реакциями [Маянский А.Н., Пикуза О.И. Клинические аспекты фагоцитоза. Казань. - «МАГАРИФ».- 1993. -192с.].

Показано, что активные формы нейтрофилов и базофилов синтезируют и высвобождают в экстрацеллюлярную среду такие биологически активные вещества как перекись водорода, пероксидазу и другие, которые инактивируют лейкотриены, обуславливающие бронхоспазм при аллергических заболеваниях, играют важную роль в противоинфекционной защите и поддержании гомеостаза организма [Иммунология.- под ред. Пола У.- М.- Мир.- 1989.- т. 3.- с.202-228; Henderson W.R., Jorg A., Klebanoff S.J. // J.Immunol.- 1982.- vol.128.- № 6.- pp. 2609-2613]. Кроме того, считают [Соколов Е. И. Сахарный диабет и атеросклероз.- М.- Наука.- 1996.- 405с.], что одним из ключевых звеньев в формировании атеросклеротической бляшки является трансформация макрофагов, при потреблении животными повышенного количества холестерина и, как следствие, нарушение функциональной активности макрофагов, в частности, клеток Купфера [Remaley A.T., Schumacher U.K., Amouzadeh H.R., Brever H.B., Hoeg J.M.// J LIPID RES.- 1995.- vol. 36.- Iss 2.- pp. 308-314.].

Известно, что процесс образования и развития метастазов во многом определяется состоянием внутрисосудистой свертываемости

крови, а в результате развития опухолевого заболевания и ряда
сопутствующих факторов активируется свертывающая система крови.
Показано, что применение антикоагулянтов способно восстановить
разбалансированность свертывающей и антисвертывающей систем крови
5 [Буров Ю.В., Сыркин А.Б., Кинзирский А.С., Королева А.М. //
Химико-фармацевтическое производство. - Обзорная информация.-
1992.- вып. 11.- 42 с]..

Активность нейтрофилов крови при тяжелых инфекциях резко
снижается, что может стать причиной генерализации инфекции, а
10 повышение числа активированных фагоцитов, к которым относятся
нейтрофилы периферической крови и перитонеальные макрофаги,
увеличивает вероятность неосложненного течения бактериальной
инфекции [Маянский А.Н., Пикуза О.И. Клинические аспекты
фагоцитоза. Казань.-«МАГАРИФ».- 1993.-192с.]. В прямой связи с
15 эффектами активации нейтрофилов и макрофагов находится
антимикробная, антивирусная и противоопухолевая защита
организма.

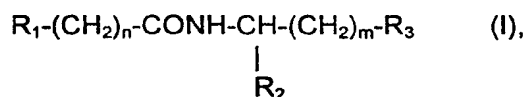
Известны соединения, β -аланилгистамин и γ -
аминобутирилгистамин, соответствующие общей формуле (I),
20 обладающие антиоксидантной активностью *in vitro*, а также
ранозаживляющей и антикатарактальной активностями, полученные
методами классической пептидной химии [Евстигнеева Р.П.,
Желтухина Г.А., Огрель С.А., Небольсин В.Е. /Синтез
псевдопептидов на основе биогенных аминов.// Докл. АН СССР.-
25 1995.- т. 345.- №4.- с. 493-495; Mc Caman M. W., Stetzler J.,
Clark B. / Synthesis of γ -Glutamyl dopamine and Other
Peptidoamines in the Nervous System of *Aplysia californica*.// J.
Neurochem.- 1985.- vol. 45.- № 6.- pp. 1828-1835; Евстигнеева
Р.П., Желтухина Г.А., Агеева Е.А., Бабижаев М.А.
30 /Липопероксидазная активность карнозина и карцинина.// Докл. АН
СССР.- 1993.- т. 333. - № 1.- с. 104-106], а также
ферментативным способом - путем сочетания аминокислоты и
гистамина в присутствии фермента типа гидролазы [Patent Fr.-
2701947.-02.09.94.]..

35 Наиболее близкими по структуре к заявляемым соединениям
дипептидной природы являются эфиры N-ацильных производных γ -

глутамилдипептидов полученные в патенте [Patent US.- 4568489.- 04.02.86] DCC-методом, однако известно, что DCC-метод, используемый для получения данных соединений может приводить к побочным реакциям по имидазольной и индольной группам [Шредер Э., Любке К. Пептиды. - М.- Мир.- 1967.- с. 249]. В заявке [WO 95/12581.- 11.05.95.- C1 CO7D 233/64.- A61K 31/415.- 7/42] раскрыты псевдопептидные продукты, имеющие имидазольную группу, обладающие антиоксидантными свойствами. Однако, ни в одной из вышеуказанных работ не раскрыты предлагаемые новые имидазолсодержащие производные дипептидов, методики их синтеза и широкий спектр их действия.

Описание изобретения

В настоящем изобретении предложены новые псевдопептиды общей формулы (I):

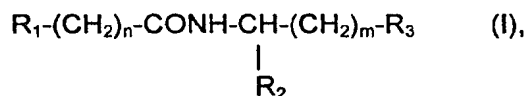


или их фармацевтически приемлемые соли, где R_1 представляет собой атом водорода или C_1-C_3 -углеводородный радикал, замещенный функциональной группой, выбранной из амино-, C_1-C_5 -амидо-, C_1-C_7 -уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а амино группа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1-C_3 углеводородный радикал, одновременно замещенный амино- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а амино группа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1-C_3 -углеводородный радикал, замещенный индольным остатком или 5-6 членной насыщенной или ненасыщенной циклической или гетероциклической группой, причем углеводородный радикал может содержать одновременно аминогруппу свободную или замещенную ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; R_2 представляет собой атом водорода или функциональную группу,

выбранную из карбоксила, который может быть этерифицирован; R_3 представляет собой индол или его метильное и/или гидроксильное производное, причем гидроксильная группа может быть ацилирована, алкилирована или аралкилирована; 5-6 членные насыщенные и ненасыщенные циклические и гетероциклические группы, содержащие кислород, серу и/или 1-3 атома азота, или их метильные производные; атом водорода или C_1 - C_3 -углеводородный радикал, замещенный функциональной группой, выбранной из amino-, C_1 - C_5 -амидо-, C_1 - C_7 -уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а amino группа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1 - C_3 углеводородный радикал, одновременно замещенный amino- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а amino группа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты, $n=0-4$, $m=1-5$, при условии, что когда $R_1=-NH_2$, $n=2-3$, $m=1$, $R_2=H$, то R_3 не означает -4-имидазолил, -3-(5-OMe-индолил), -3-(5-OH-индолил); когда $R_1=-NH_2$, $n=4-5$, $m=1$, $R_2=H$, то R_3 не означает -4-имидазолил; когда $R_1=-NH_2$, $n=2-3$, $m=1$, $R_2=-COOH$, то R_3 не означает -4-имидазолил; когда $R_1=-NHCOCH_3$, $n=2$, $m=1$, $R_2=H, -COOH$, то R_3 не означает -4-имидазолил; когда $R_1=HOOC-CH(NH_2)-$, $n=2$, $m=1$, $R_2=H, -COOH$, то R_3 не означает -4-имидазолил, -3-индолил, -3-(5-OH-индолил); когда $R_1=HOOC-CH(NH_2)-$, $n=1$, $m=1$, $R_2=-COOH$, то R_3 не означает -4-имидазолил; когда $R_1=NH_2-CH([CH_2]_kCOOH)-$, $n=0$, $k=1-2$, $m=1$, $R_2=COOH$, то R_3 не означает -4-имидазолил, когда $R_1=NH_2-CH([CH_2]_2COOH)-$, $n=0$, $m=1$, $R_2=H$, то R_3 не означает -4-имидазолил, когда $R_1=CH_3-CONH-CH(COOH)-$, $n=1$, $m=1$, $R_2=H$, то R_3 не означает -4-имидазолил, -3-индолил, -3-(5-OH-индолил); когда $R_1=CH_3CONH-CH(COOH)-$, $n=2$, $m=1$, $R_2=-COOH$, то R_3 не означает -3-индолил; когда $R_1=CH_3CONH-CH(CH_2COOH)-$, $n=0$, $m=1$, $R_2=H$, то R_3 не означает -4-имидазолил, -3-индолил, -3-(5-OH-индолил); когда $R_1=Ry-NH-CH(Rx-CH_2)-$, $n=0$, $m=1$, $R_2=-COOH$, где $Rx=$ -4-имидазолил, -3-индолил, $Ry=$ Вос-, Z-, H-, то R_3 не означает -4-имидазолил, -3-индолил; когда $R_1=о-, м-, п-C_5H_4N-$, $n=0$, $m=1$, $R_2=H$, то R_3 не означает -3-индолил; -3-(5-OMe-индолил); когда $R_1=-COOH$, $n=1-2$, $m=1$, $R_2=-COOH$, то R_3 не означает

-3-индолил; когда $R_1\text{-CO-} = \text{pGlu-}$, $n=0$, $m=1$, $R_2=\text{H}$, $-\text{COOH}$, $-\text{COOCH}_3$, то R_3 не означает -4-имидазолил; когда $R_1\text{-CO-} = \text{pGlu-}$, $n=0$, $m=1$, $R_2=\text{COOH}$, то R_3 не означает -3-индолил; когда $R_1\text{-CO-} = \text{Pro-}$, $n=0$, $m=1$, $R_2=\text{H}$, то R_3 не означает -4-имидазолил; когда $R_1\text{-CO-} = \text{Pro-}$, $n=0$, $m=1$, $R_2=\text{COOH}$, то R_3 не означает -4-имидазолил, -3-индолил, обладающие антиоксидантным, антирадикальным, липидрегулирующим, гипогликемическим, противовоспалительным, антиагрегантным, иммуномодулирующим, антиаллергическим, антигипоксическим, антиатеросклеротическим, действием, а также способностью индуцировать систему цитохрома P-450, модулировать метаболизм арахидоновой кислоты, гормонов коры надпочечников, снижать содержание и антиген-зависимую секрецию гистамина перитонеальными тучными клетками, модулировать активность макрофагов, натуральных киллеров, систему интерферона (цитокинов), а также активностью в отношении устранения признаков и предупреждения астмы и эмфиземы легких, ранозаживляющими свойствами, активностью в отношении устранения признаков поражения кожи, например, псориаза, экземы, варикозного расширения вен, активностью в отношении предупреждения дисфункциональных расстройств, в том числе угрозы выкидыша, дисфункциональных маточных кровотечений, аменореи, а также активностью в отношении устранения признаков ишемической болезни, ожирения, сахарного диабета, гепатопротекторными свойствами, активностью в отношении устранения радиационных поражений, поражений печени, в том числе токсических, гепатита, цирроза, алкоголизма, способностью предупреждать развитие и устранять признаки геронтологических изменений, в том числе катаракты, изменений кожных покровов, старческих психозов, болезней Альцгеймера и Паркинсона, антибактериальной и противовирусной активностью, в том числе против ВИЧ-инфекции, противоопухолевой и антиметастатической активностью, в том числе при их сочетанном применении с цитостатиками и радиотерапией, а также полезные в качестве адаптогена для преодоления стрессовых состояний, в том числе тяжелой физической нагрузки.

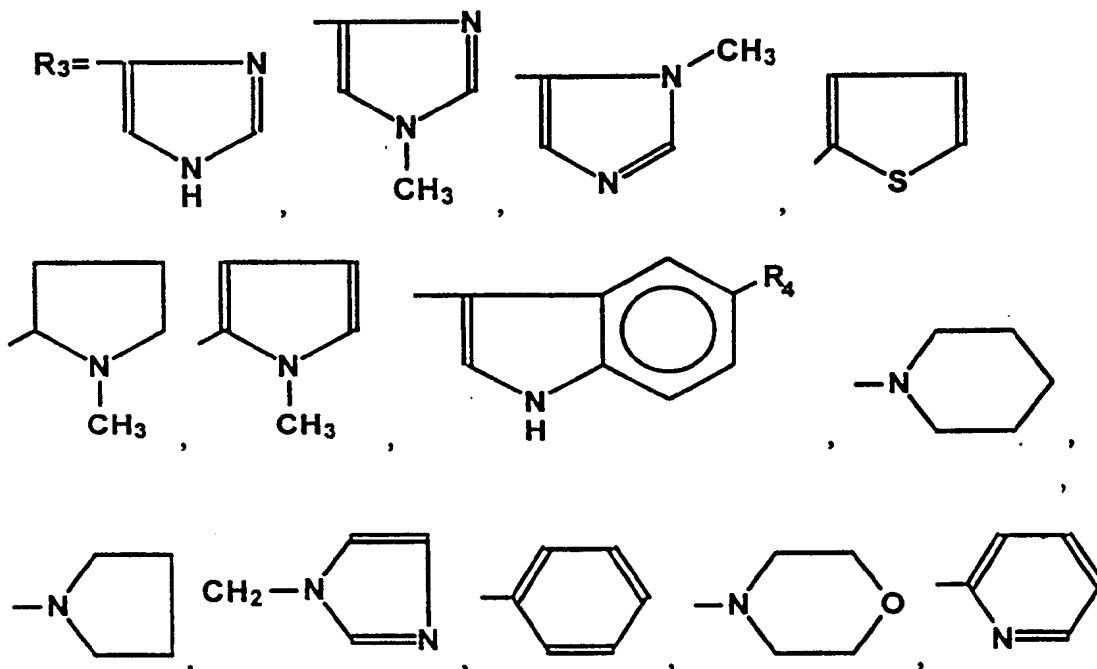
Предпочтительными соединениями настоящего изобретения являются псевдодипептиды общей формулы



5

где $R_1=NH_2-$, $n=2\div 5$; $R_1=HOOC-$, $n=1\div 4$; $R_1=R_z-OCO-$, $n=1\div 4$, $R_z= -H$ или C_1-C_3 углеводородный радикал; $R_1=HOOC-CH_2-(CH_3)C(R_v)-$, $n=1$, $R_v=H, OH, CH_3$; $R_1=C_6H_5CH_2-OCO-NH-$, $n=2\div 3$; $R_1=Rx-CONH-$, $n=2\div 5$, $Rx=C_1-C_3$ углеводородный радикал; $R_1=CH_3CONH-CH(COOH)-$, $n=1\div 2$; $R_1=CH_3CONH-CH([CH_2]_kCOOH)-$, $n=0$, $k=1\div 2$; $R_1=NH_2-CH([CH_2]_kCOOH)-$, $n=0$, $k=1\div 2$; $R_1=HOOC-CH(NH_2)-$, $n=1\div 2$; $R_1=CH_3OOC-CH(NH_2)-$, $n=1\div 2$; $R_1=(CH_3)_3C-CONH-CH(COOCH_2-C_6H_5)-$, $n=1\div 2$; $R_1=$ -4-имидазолил, -3-индолил, $n=1\div 3$; $R_1=R_b-CH_2-CH(NHR_y)-$, $R_b=$ -4-имидазолил, -3-индолил, $R_y=$ Boc-, Z-, H-, $n=0$; $R_1=-CH_3$, $n=3-5$; $R_1=$ цикло- C_6H_{11} , $n=0$; $R_1=о,м,п-C_5H_4N-$, $n=0$; $R_1-CO-=$ pGlu-, $n=0$; $R_1-CO-=$ Pro-, гомо-Pro-, $n=0$;

$R_2=-H$, $-COOH$, $-COOR_z$, $R_z= -H$ или C_1-C_3 углеводородный радикал,

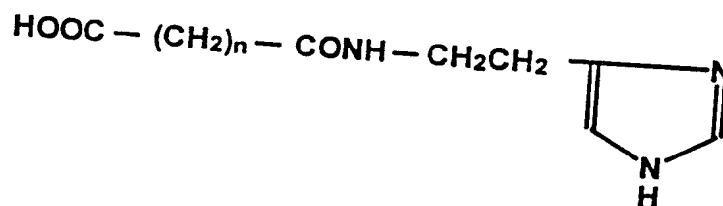


12a

$m=1$; $R_3=-CH_3$, $m=1-5$; $R_3=-NH_2$, $m=1-3$; $R_3=-COOH$, $m=0-3$; $R_3=-CH(NH_2)-COOH$, $m=0-2$, где $R_4=-H$, $-OH$, $-OCH_3$, $-OCH_2C_6H_5$.

Характерными представителями новых дипептидов и псевдодипептидов, соответствующих общей формуле (I), являются представленные ниже:

Глутарилгистамин ($n=3$), Сукцинилгистамин ($n=2$)



N^α -ацетил-L-γ-глутамилгистамин

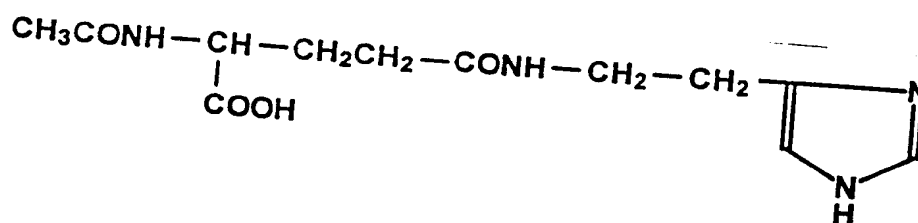
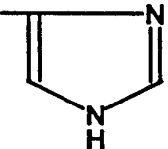
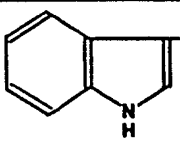
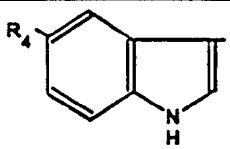
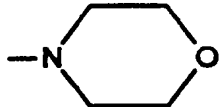
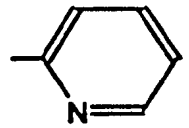
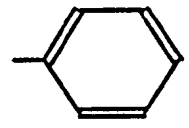
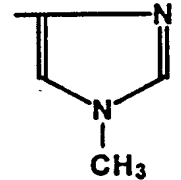
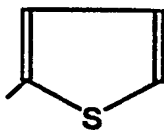
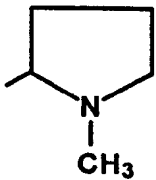

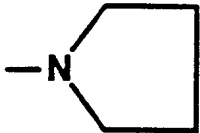
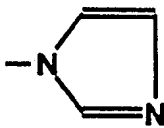
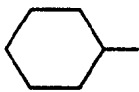
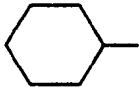
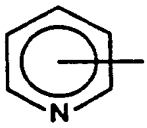
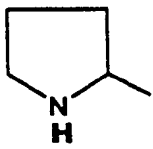
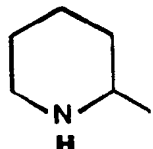
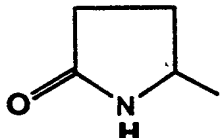


Таблица 1

№ соед.	R ₁	n	R ₂	m	R ₃
II	HOOC-	2	H	1	 (-4-Im*)
III	HOOC-	3	H	1	-4-Im
IV	HOOC-	4	H	1	-4-Im
V	HOOC-CH ₂ -(CH ₃)CH-	1	H	1	-4-Im
VI ^A	$\begin{array}{c} (\text{CH}_3)_3\text{COCONH-CH-} \\ \\ \text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	2	H	1	-4-Im
VI	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{CONHCH-} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$	2	H	1	-4-Im
VII	$\begin{array}{c} \text{HOOC-CH-} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2	-COOCH ₃	1	-4-Im
VIII	$\begin{array}{c} \text{HOOC-CH-} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2	-COOCH ₃	1	 (-3-Ind**)
IX	HOOC-	3	-COOCH ₃	1	-4-Im
X ⁶	C ₆ H ₅ CH ₂ OCONH-	3	-COOCH ₃	1	-4-Im
X	NH ₂ -	3	-COOCH ₃	1	-4-Im
XI	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{OOC-CH-} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2	-COOH	1	-4-Im

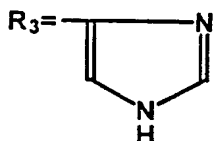
	XII ^a	$C_6H_5CH_2OCONH-$	3	H	1	-3-Ind
5	XII	NH_2-	3	H	1	-3-Ind
	XIII	NH_2-	2	H	1	-3-Ind
10		$HOOC-$	3	H	1	 , где
	XIV	$HOOC-$	3	H	1	$R_4 = -OCH_2C_6H_5$
15	XV	$HOOC-$	3	H	1	$R_4 = -OH$
	XVI	$HOOC-$	3	H	1	$R_4 = -OCH_3$
	XVII	$HOOC-$	3	H	1	$R_4 = -H$
20	XVIII	$HOOC-$	3	H	1	$R_4 = -COCH_3$
	XIX	$HOOC-$	3	H	1	
25	XX	$HOOC-$	3	H	1	
30	XXI	$HOOC-$	3	H	1	
35	XXII	$HOOC-$	2	H	1	

XXIII	HOOC-	3	-COOCH ₃	1	
XXIV	HOOC-	3	H	1	
XXV	HOOC-	3	H	1	
XXVI	HOOC-	3	H	1	
XXVII	HOOC-	2	H	2	
XXVIII	C ₂ H ₅ OCO-	1	H	1	-4-Im
XXIX		0	H	1	-4-Im
XXX		0	H	1	-3-Ind
XXXI	CH ₃ -	4	H	1	-3-Ind
XXXII	CH ₃ -	4	-COOCH ₃	1	-3-Ind
XXXIII	-4-Im	1	H	5	CH ₃ -

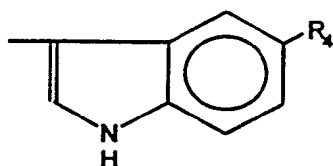
XXXIV	-3-Ind	1	H	2	-(NH ₂)CH-COOH
XXXV	-3-Ind	2	H	2	-NH ₂
XXXVI	-CH(NH ₂)-CH ₂ -4-Im	0	H	1	-COOH
XXXVII	-NHCO-CH ₃	3	H	1	-4-Im
XXXVIII	NH ₂ -CH(COOH)-	1	H	1	-4-Im
XXXIX	NH ₂ -CH(CH ₂ COOH)-	0	H	1	-4-Im
XL ^{a,b,c}		0	H	1	-4-Im
XLI		0	H	1	-3-Ind
XLII		0	H	1	-4-Ind
XLIII		0	H	1	-3-Ind

*Im – имидазолил, **Ind - индолил.

Далее, настоящее изобретение относится к применению известных соединений формулы I, где, когда $R_1 = \text{NH}_2-$, $n=2-3$, $R_1 = \text{NH}_2-\text{CH}(\text{COOH})-$, $n=2$, $R_1 = \text{CH}_3\text{CONH}-\text{CH}(\text{COOH})-$, $n=1$, $R_1 = \text{CH}_3\text{CONH}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{COOH})-$, $n=0$, $R_1-\text{CO}- = \text{pGlu}-$, $n=0$, $R_2 = -\text{H}$, когда $R_1 = \text{NH}_2-$, $n=2$, $R_2 = -\text{COOH}$,



, $m=1$, когда $R_1 = \text{NH}_2-$, $n=2-3$, $R_1 = \text{NH}_2-\text{CH}(\text{COOH})-$, $n=2$, $R_2 = \text{H}$,



, $m=1$, где $R_4 = -\text{H}$, $-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$,

в качестве средств, обладающих антиаллергическим действием, кроме соединения γ -L-глутамилгистамин, ранозаживляющими свойствами, кроме соединений β -аланилгистамин, γ -аминобутирилгистамин и γ -L-глутамилгистамин, иммуномодулирующим и антирадикальным действием, за исключением соединений β -аланилгистамин и γ -аминобутирилгистамин, антигипоксическим, антиоксидантным *in vivo*, липидрегулирующим, гипогликемическим, противовоспалительным, антиагрегантным, антигипоксическим, антиатеросклеротическим, действием, а также способностью индуцировать систему цитохрома P-450, модулировать метаболизм арахидоновой кислоты, гормонов коры надпочечников, снижать содержание и антиген-зависимую секрецию гистамина перитонеальными тучными клетками, модулировать активность макрофагов, натуральных киллеров, систему интерферона (цитокинов), а также активностью в отношении устранения признаков и предупреждения астмы и эмфиземы легких, активностью в отношении устранения признаков поражения кожи, например,

псориаза, экземы, варикозного расширения вен, активностью в отношении предупреждения дисфункциональных расстройств, в том числе угрозы выкидыша, дисфункциональных маточных кровотечений, аменореи, а также активностью в отношении устранения признаков

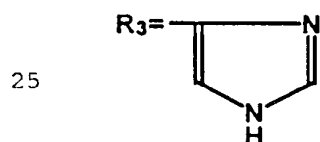
5 ишемической болезни, ожирения, сахарного диабета, гепатопротекторными свойствами, активностью в отношении устранения радиационных поражений, поражений печени, в том числе токсических, гепатита, цирроза, алкоголизма, способностью предупреждать развитие и устранять признаки геронтологических

10 изменений, в том числе катаракты, изменений кожных покровов, старческих психозов, болезней Альцгеймера и Паркинсона, антибактериальной и противовирусной активностью, в том числе против ВИЧ-инфекции, противоопухолевой и антиметастатической активностью, в том числе при их сочетанном применении с

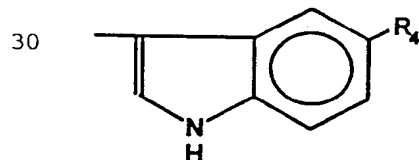
15 цитостатиками и радиотерапией, а также полезные в качестве адаптогена для преодоления стрессовых состояний, в том числе тяжелой физической нагрузки.

Наиболее предпочтительны известные псевдодипептиды, соответствующих общей формуле (I), где, когда $R_1 = \text{NH}_2-$, $n=2-3$,

20 $R_1 = \text{NH}_2-\text{CH}(\text{COOH})-$, $n=2$, $R_1 = \text{CH}_3\text{CONH}-\text{CH}(\text{COOH})-$, $n=1$, $R_1 = \text{CH}_3\text{CONH}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{COOH})-$, $n=0$, $R_1-\text{CO}- = \text{pGlu}-$, $n=0$, $R_2 = -\text{H}$, когда $R_1 = \text{NH}_2-\text{CH}(\text{COOH})-$, $n=1-2$, $R_2 = -\text{COOH}$,



$m=1$, когда $R_1 = \text{NH}_2-$, $n=2-3$, $R_1 = \text{NH}_2-\text{CH}(\text{COOH})-$, $n=2$, $R_2 = \text{H}$,

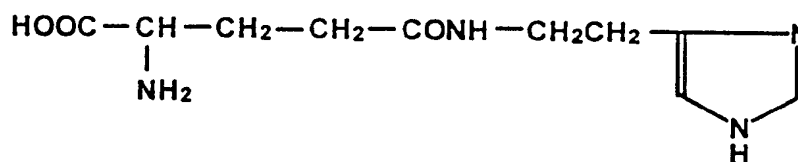


, $m=1$, где $R_4 = -\text{H}, -\text{OH}$.

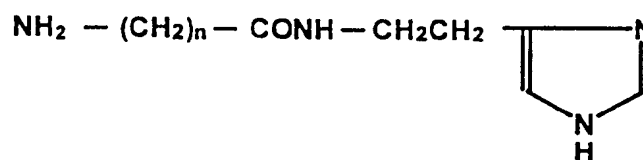
Характерные примеры известных псевдодипептидов, соответствующих общей формуле (I), представлены ниже:

35

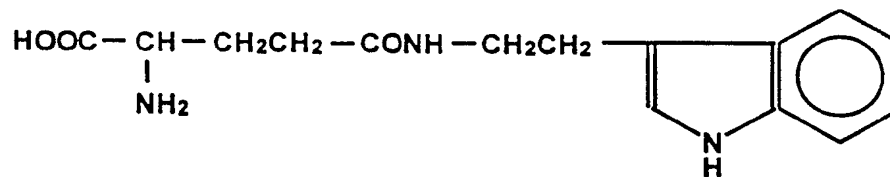
γ -L-, D-глутамилгистамин (XLIV, XLV)



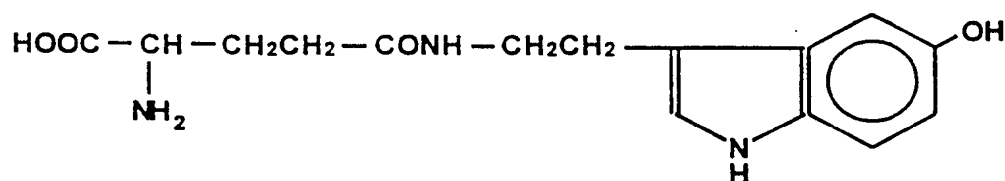
β -Аланилгистамин, $n=2$; γ -Аминобутирилгистамин, $n=3$ (XLVI, XLVII)



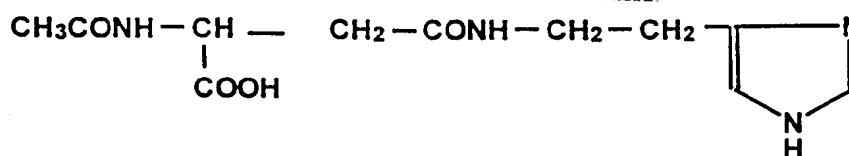
γ -L-глутамилтриптамин (XLVIII)



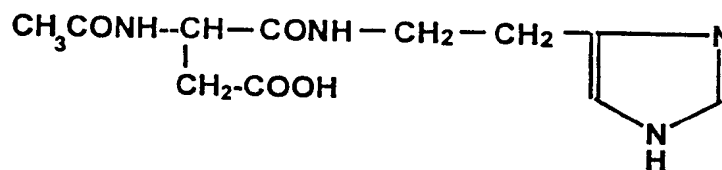
γ -L-глутамилсеротонин (XLIX)



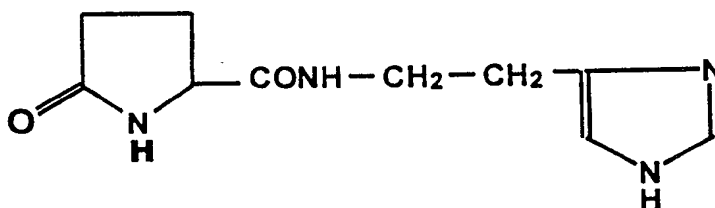
N-Ацетил- β -Аспартилгистамин (L)



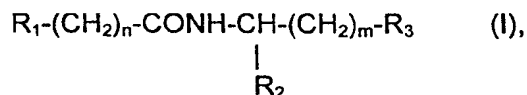
N-Ацетил- α -Аспартилгистамин (LI)



Пироглутамилгистамин (LII)



Еще одним объектом данного изобретения является способ получения новых и известных псевдопептидов общей формулы I,



или их фармацевтически приемлемых солей, где R_1 представляет собой атом водорода или C_1 - C_3 -углеводородный радикал, замещенный функциональной группой, выбранной из amino-, C_1 - C_5 -амидо-, C_1 - C_7 -уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а amino группа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1 - C_3 углеводородный радикал, одновременно замещенный amino- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а amino группа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1 - C_3 -углеводородный радикал, замещенный индольным остатком или 5-6 членной насыщенной или ненасыщенной циклической или гетероциклической группой, причем углеводородный радикал может содержать одновременно аминогруппу, свободную или замещенную ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; R_2 представляет собой атом водорода или функциональную группу, выбранную из карбоксила, который может быть этерифицирован; R_3 представляет собой индол или его метильное и/или гидроксильное производное, причем гидроксильная группа может быть ацилирована, алкилирована или аралкилирована; 5-6 членные насыщенные и ненасыщенные циклические и гетероциклические группы, содержащие кислород, серу и/или 1-3 атома азота, или их метильные производные; атом водорода или C_1 - C_3 -углеводородный радикал,

замещенный функциональной группой, выбранной из amino-, C₁-C₅-амидо-, C₁-C₇-уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а amino группа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C₁-C₃ углеводородный радикал, одновременно замещенный amino- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а amino группа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты, n=0-4, m=1-5, включающий ацилирование аминокруппы аминоксоединения общей формулы $\text{NH}_2\text{-CH(R}_2\text{)-(CH}_2\text{)}_m\text{-R}_3$, активированным по карбоксильной группе соединением общей формулы $\text{R}_1\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-COX}$, где X- активирующая группа.

Более детально, соединения общей формулы (I) получают ацилированием аминокруппы амина или аминокислоты активированным по карбоксильной группе производным карбоновой, дикарбоновой или N-защищенной аминокислоты.

Синтез дипептидов и псевдодипептидов, содержащих N-аминоацильный заместитель, осуществляют классическими методами пептидной химии с применением, предпочтительно, активированных, например, N-оксисукцинимидных эфиров. Предпочтительный вариант включает применение пентафторфениловых эфиров, как наиболее активных из известных. В качестве активированных производных дикарбоновых кислот применяют, как правило, их циклические внутренние ангидриды.

α-Аминокруппу карбоксильного или аминоккомпонента защищают различными обычно применяемыми группами, предпочтительно трет.-бутилоксикарбонильной (Boc-) или бензилоксикарбонильной (Z-) защитными группами.

α-Карбоксильные функции глутаминовой и аспарагиновой кислот защищают, предпочтительно, бензильной (Bzl-) группой, а орнитина трет.-бутильной группой.

Карбоксильная группа аминоккомпонента - гистидина в соединениях общей формулы (I) находится в виде метилового эфира или остается незащищенной.

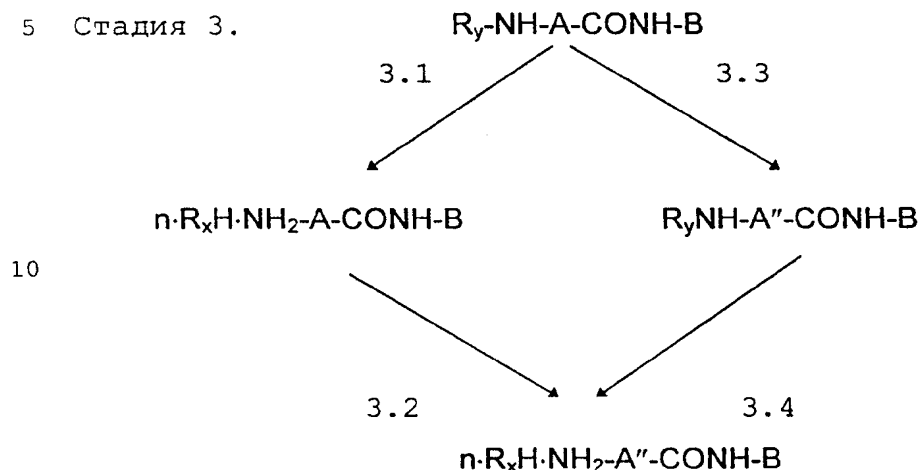
Синтез соединений, содержащих N-аминоацильный заместитель, представлен на следующей схеме 1:

Схема 1.

Стадия 1. $R_Y\text{-NH-A-COO-X} + \text{NH}_2\text{-B} \rightarrow R_Y\text{-NH-A-CONH-B}$

Стадия 2. $R_Y\text{-NH-A-CONH-B} \rightarrow \text{NH}_2\text{-A-CONH-B}$

5 Стадия 3.



10

15 Стадия 4. $n\cdot R_xH\cdot NH_2\text{-A''-CONH-B} \rightarrow \text{NH}_2\text{-A''-CO-NH-B}$,

где $R_Y = \text{Boc-}$, $Z\text{-}$; $\text{NH}_2\text{-A-CO-} = \beta\text{-Ala-}$, $\gamma\text{-Abu-}$, H-L-Glu-OBzl , H-L-Asp-OBzl , H-L-Asp(Obzl)- ; $\text{NH}_2\text{-B} = \text{HA}$, H-His-OH , H-His-OMe , TrpA , H-Trp-OMe , 5-(OMe)TrpA , 5-(OBzl)TrpA ; $\text{NH}_2\text{-A''-CO-} = \text{H-L-Glu-}$, H-L-Glu-OMe ,

20

$n\cdot R_xH = \text{HNaI (HCl)}$, CF_3COOH , $n = 1, 2$.

Стадию 1 проводят, как правило, в среде безводного апротонного растворителя, предпочтительно, диметилформамида (ДМФ), 18-48 часов при комнатной температуре, за исключением

25 получения дипептида $\text{Boc-L-Glu(L-His)-OBzl}$. Последний получают действием 3-х кратного избытка $\text{Boc-L-Glu(ONSu)-OBzl}$ на незащищенный L-гистидин в водно-диоксановой среде (1:1). Преимуществом данного способа является упрощение процесса вследствие уменьшения числа стадий (отсутствия необходимости

30 вводить и удалять C-защиту гистидина) и возможности получения дипептида, селективно защищенного по одной из двух карбоксильных групп.

Если это необходимо, проводят отщепление защитных групп промежуточного соединения $R_Y\text{-NH-A-CONH-B}$ в соответствии со

35 стадиями 2 и 3.

Стадия 2 проводится лишь в случае $R_Y=Z-$, $NH_2-A-CO-$ = β -Ala-, γ -Abu- путем каталитического гидрогенолиза.

Когда это необходимо, осуществляется стадия 3 в 2-х различных модификациях при наличии в промежуточном соединении $R_Y-A-CONH-B$ N^α -Вос- и Bzl-групп, а именно, для производных глутаминовой и аспарагиновой кислот. Способ 3.1 заключается в ацидолитическом отщеплении N^α -Вос-защиты, например, действием хлористого водорода в органическом растворителе, преимущественно диоксане, метаноле или их смеси; или трифторуксусной кислотой с последующим удалением Bzl-группы каталитическим гидрогенолизом (3.2). По способу 3.3 сначала проводится гидрогенолиз, а затем ацидолитическое отщепление N^α -защиты (3.4). В результате осуществления стадии 3 получают продукты в виде соответствующих солей.

При необходимости получения целевых соединений в виде свободных оснований проводят стадию 4.

В случае, если соединение не содержит незащищенных карбоксильных групп, оно может быть получено в виде свободного основания добавлением органического (Et_3N) или неорганического ($NaOH$) основания, с последующим отделением соли этого основания от целевого продукта. Кроме того, для этой цели можно использовать ионообменную хроматографию в соответствии с известной методикой [Евстигнеева Р.П., Желтухина Г.А., Огрель С.А., Небольсин В.Е. / Синтез псевдопептидов на основе биогенных аминов.// Докл. АН СССР.- 1995.- т. 345.- №4.- с. 493-495].

Кроме того, когда это необходимо, соединение в форме основания может быть получено в виде соли переходного металла с образованием хелата.

Известное соединение γ -L-Glu-NA [Konishi H., Kakimoto Y. / Formation of γ -glutamylhistamine from histamine in rat brain.// J. Neurochem.- 1976.- vol. 27.- pp.1461-1463], являющееся исходным для получения нового производного (V), может быть получено описанным в литературе способом [Mc Caman M. W., Stetzler J., Clark B. / Synthesis of γ -Glutamyl dopamine and Other Peptidoamines in the Nervous System of Aplysia

californica.// J. Neurochem.- 1985.- vol. 45.- № 6.- pp. 1828-1835]. N-ацетильное производное γ -L-Glu-NA - Ac- γ -L-Glu-NA (V), может быть получено в соответствии с предложенным в данном изобретении способом, представленным на схеме 2.

5

Схема 2

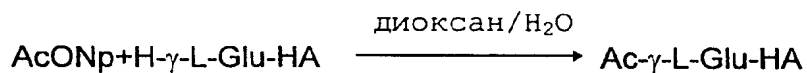


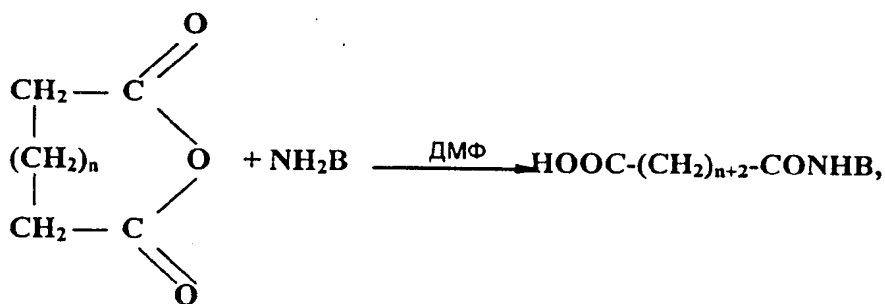
Схема 2 введения ацетильной группы в дипептид имеет преимущества по сравнению с использованием N-ацетильного производного глутаминовой кислоты в качестве исходного продукта для создания пептидной связи, т.к. уменьшает возможность рацемизации. Применение п-нитрофенилацетата предпочтительно по сравнению с уксусным ангидридом, т.к. его использование не сопровождается побочными реакциями по имидазольной группе, которые заключаются в образовании ацетильного производного по имидазолу и соответствующей соли последнего с молекулой выделяющейся уксусной кислоты.

Синтез соединений общей формулы (I), содержащих остаток дикарбоновой кислоты, может быть осуществлен различными способами, предпочтительно в соответствии со схемой 3, где в качестве C-активированного карбоксильного соединения применяют его внутренний циклический ангидрид.

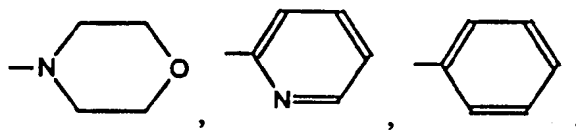
Схема 3

25

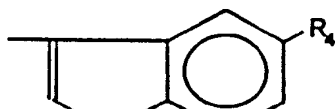
30



где $n=0 \div 1$, $\text{NH}_2\text{B}=\text{HA}$, H-His-OMe,



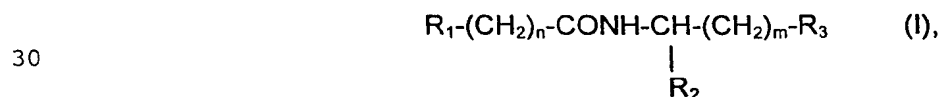
35



В случае, если подобный ангидрид не является доступным, например, для адипиновой кислоты, синтез псевдопептида может быть осуществлен DCC-методом. При этом сначала проводится реакция дикарбоновой кислоты с DCC при соотношении 2:1
 5 моль/моль, а затем добавляют аминокомпонент (амин или производное аминокислоты).

Синтез соединений общей формулы (I), содержащих N-ацильный остаток жирной кислоты, осуществляют хлорангидридным методом.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтической
 10 или косметической композиции, обладающей антигипоксическим, антиоксидантным, антирадикальным, липидрегулирующим, гипогликемическим, антиагрегантным, иммуномодулирующим, ранозаживляющим, противоаллергическим, антиастматическим, противовирусным, антибактериальным, противоопухолевым,
 15 антиметастатическим, адаптогенным действием, способностью индуцировать систему цитохрома Р-450 печени, модулировать метаболизм арахидоновой кислоты, гормонов коры надпочечников, снижать содержание и антигензависимую секрецию гистамина тучными клетками, модулировать активность макрофагов, натуральных
 20 киллеров, систему интерферона (цитокинов), а также предупреждать выкидыши и дисфункциональные маточные кровотечения, проявления сахарного диабета, ожирения, ишемической болезни сердца, стрессовых состояний, гепатита, цирроза, токсических поражений печени, алкоголизма, радиационных поражений, геронтологических
 25 изменений, содержащей в качестве активного агента как новые, так и известные производные пептида общей формулы (I), где



или их фармацевтически приемлемые соли, где R_1 представляет собой атом водорода или C_1 - C_3 -углеводородный радикал, замещенный
 35 функциональной группой, выбранной из amino-, C_1 - C_5 -амидо-, C_1 - C_7 -уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а amino группа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1 - C_3

углеводородный радикал, одновременно замещенный амино- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а амино группа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1-C_3 -

5 углеводородный радикал, замещенный индольным остатком или 5-6 членной насыщенной или ненасыщенной циклической или гетероциклической группой, причем углеводородный радикал может содержать одновременно аминогруппу свободную или замещенную ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; R_2

10 представляет собой атом водорода или функциональную группу, выбранную из карбоксила, который может быть этерифицирован; R_3 представляет собой индол или его метильное и/или гидроксильное производное, причем гидроксильная группа может быть ацилирована, алкилирована или аралкилирована; 5-6 членные насыщенные и

15 ненасыщенные циклические и гетероциклические группы, содержащие кислород, серу и/или 1-3 атома азота, или их метильные производные; атом водорода или C_1-C_3 -углеводородный радикал, замещенный функциональной группой, выбранной из амино-, C_1-C_5 -амидо-, C_1-C_7 -уретано- или карбоксильной групп, причем

20 карбоксильная группа может быть этерифицирована, а амино группа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1-C_3 углеводородный радикал, одновременно замещенный амино- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть

25 замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты, $n=0-4$, $m=1-5$, в эффективном количестве и фармацевтически приемлемые добавки.

Фармацевтические композиции настоящего изобретения могут быть использованы в виде фармацевтических препаратов (например,

30 в твердой, полутвердой или жидкой формах), содержащих соединения настоящего изобретения в качестве активных ингредиентов в смеси с органическим или неорганическим носителем или наполнителем, приемлемым для внутримышечного, внутривенного, интраназального, перорального, сублингвального, ингаляционного и интаректального

35 введения. Активный ингредиент может быть включен в фармацевтическую композицию вместе с обычно используемыми

нетоксичными, фармацевтически приемлемыми носителями, пригодными для изготовления растворов, таблеток, пилюль, капсул, суппозиториев, эмульсий, суспензий, мазей и любых других лекарственных форм. В качестве носителей могут быть использованы

5 вода, глюкоза, лактоза, аравийская камедь, желатин, крахмал, триксилит магния, тальк, кукурузный крахмал, мочевины и другие носители, пригодные для изготовления твердых, мягких или жидких препаратов. При этом, в качестве добавок могут быть использованы стабилизаторы, загустители, красители и отдушки.

10 Активное целевое соединение вводят в фармацевтическую композицию в количестве достаточном для получения нужного эффекта в зависимости от нозологии, течения и тяжести заболевания.

 При изготовлении разовой лекарственной формы, количество

15 активного ингредиента, используемого в комбинации с носителем, может варьировать в зависимости от реципиента, подвергающегося лечению, от конкретного способа введения лекарственного средства.

 Так, например, при использовании соединений настоящего

20 изобретения в виде растворов для инъекций содержание действующего начала в них составляет 0,01-0,03%. В качестве разбавителя вещества могут быть использованы 0,9% раствор натрия хлорида, дистиллированная вода, раствор новокаина для инъекций, раствор Рингера, раствор глюкозы. При использовании соединения

25 общей формулы (I) в виде таблеток и суппозиториев количество составляет 3,0-30,0 мг на единичную дозированную форму. Для таблеток и суппозиториев в качестве фармацевтического наполнителя используют любую фармацевтически пригодную основу.

 Для лечения и профилактики заболеваний и состояний,

30 связанных с аллергией, воспалением, бронхиальной астмой, эмфиземой легких, псориазом, экземой, варикозным расширением вен, дисфункциональными расстройствами, угрозой выкидыша, маточными кровотечениями, атеросклерозом, ишемической болезнью, ожирением, сахарным диабетом, инфекциями (вирусными и

35 бактериальными), онкологией, поражениями печени (гепатиты, циррозы), алкоголизмом, токсическими, радиационными,

геронтологическими поражениями, а также, при необходимости, ускорения ранозаживления, адаптогенного воздействия, индукции системы цитохрома Р-450 печени, модуляции метаболизма арахидоновой кислоты, гормонов коры надпочечников, снижения содержания и антигензависимой секреции гистамина тучными клетками, модуляции активности макрофагов, натуральных киллеров, системы интерферона (цитокинов), соединения формулы (I) могут быть введены перорально, местно, парентерально, путем ингаляций и ректально в виде единичных дозированных форм, содержащих стандартные, нетоксичные фармацевтически приемлемые носители. Используемый в настоящем описании термин «парентеральное введение» означает подкожные, внутривенные, внутримышечные или внутригрудные инъекции или вливания.

Соединения настоящего изобретения могут быть введены в дозах, составляющих от 0,03 до 0,5 мг на 1 кг веса тела в день, в течение 5-10 дней по 1 разу в день.

При этом следует отметить, что конкретная доза для каждого конкретного пациента будет зависеть от многих факторов, включая активность данного используемого соединения, возраст, вес тела, пол, общее состояние здоровья, и режим питания пациента, время и способ введения лекарственного средства, скорость его выведения из организма, конкретно используемую комбинацию лекарственных средств, а также тяжесть заболевания, подвергаемого лечению.

Лекарственные формы настоящего изобретения получают по стандартным методикам.

Следует отметить, соединения настоящего изобретения проявляют биологическую активность в дозах на два-три порядка ниже по сравнению с известными препаратами, использованными для сравнения, при практически одинаковой эффективности и для них не выявлено отрицательных побочных действий и не обнаружено противопоказаний к применению. При этом, при исследовании токсичности не найдена ЛД₅₀, так как даже при введении животным, например одного из исследуемых соединений в дозе 5000 мкг/кг перорально и 10000 мкг/кг парентерально не наблюдают гибели экспериментальных животных.

Антигипоксическая активность заявляемых соединений

позволяет использовать их в качестве противоишемических агентов, так как известно, что наиболее важным фактором в развитии очага некроза является снижение поступления крови к определенному участку сердца и, следовательно, кислорода.

5 Способность соединений общей формулы (I) модулировать биохимические и физиологические системы: систему цитохрома Р-450 печени, гормонального фона, системы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антирадикальной активности, метаболизма арахидоновой кислоты, спонтанной и антиген-стимулированной
10 секреции гистамина перитонеальными тучными клетками, объясняет их выраженную антиаллергическую и противовоспалительную активность.

Кроме этого, эндогенное повышение содержания предшественников и глюкокортикоидных гормонов под влиянием
15 исследуемых соединений может быть использовано при лечении заболеваний, связанных со снижением синтеза этих гормонов в организме. Известно, что экзогенное введение гормональных препаратов приводит, как правило, к системным осложнениям и является фактором риска развития онкологических заболеваний
20 [Parker K.L., Schimmer B.P. /The Role of Nuclear Receptors in Steroid-Hormones Production. //Seminars in Cancer Biology.- 1994.- Vol. 5.- Iss 5.- pp. 317-325.], а также угнетает в организме синтез соответствующих гормонов. В частности, можно прогнозировать положительный эффект использования соединений
25 общей формулы (I) при патологиях, сопровождающихся снижением содержания кортикостероидов: аллергические и воспалительные заболевания, поражения печени различной этиологии, гинекологические заболевания. Выявленное повышение количества оксипрогестерона в крови может иметь важное значение при лечении
30 ряда гинекологических заболеваний, таких как бесплодие, угроза выкидыша, аменорея, дисфункциональные маточные кровотечения и др. Так как известно, что глюкокортикоиды и сосудорасширяющие препараты применяются при лечении кожных проявлений аллергических заболеваний, а также ряда кожных заболеваний, в
35 том числе, псориаза, то исследованные соединения могут быть использованы и для лечения этих заболеваний.

Поскольку предлагаемые соединения обладают способностью снижать проявления аллергических и воспалительных реакций при местном применении, а также увеличивать синтез эндогенных антиагрегантов - простагландина E_2 и простациклина (6-кето-
5 $PGF_{1\alpha}$), то возможно их использование в виде мази при развитии варикозного расширения вен, в патогенезе которого присутствуют такие компоненты как воспалительный, повышение свертывания крови и другие.

Известно, что процессы старения также связаны с
10 окислительным стрессом, сопровождающимся повышением ПОЛ и, как следствие этого, образованием МДА, который, взаимодействуя с лизином белков, образует липофусциноподобный пигмент. Это, вероятно, ускоряет липофусциноз, что вызывает необратимые морфологические сдвиги. Снижение содержания МДА соединениями
15 данного изобретения уменьшает вероятность образование данного пигмента, что может приводить к понижению вероятности развития возрастных заболеваний. Кроме того, подтверждением возможности применения исследуемых соединений при возрастных заболеваниях могут служить результаты, полученные в работе Эмануэля с
20 соавторами [Эмануэль Н.М., Обухова Л.К., Найдич В.И., Мурза Л.И., Бунто Т.В. / Замедление старения посредством активации системы микросомальных оксидаз фенобарбиталом.// Докл. АН СССР.- 1977.- т. 235.- № 4.- с. 957-960.], по увеличению средней продолжительности жизни экспериментальных животных при
25 использовании малых доз фенобарбитала. Соединения общей формулы (I) вызывают схожие с фенобарбиталом изменения системы цитохрома P-450 печени, и результатом их влияния на организм может быть снижение скорости старения. Комплекс геронтологических заболеваний включает такие патологические состояния как
30 старческие психозы, катаракта, старческие изменения кожных покровов. Соединения формулы (I) также могут быть использованы при лечении болезни Паркинсона, катаракты, старческих изменений кожных покровов, одним из звеньев патогенеза которых является окислительный стресс в нервной ткани (увеличение ПОЛ).

35 Соединения общей формулы (I) обладают выраженным гепатопротекторным действием. Это действие соединений

объясняется тем, что при введении их в организм происходит функциональная перестройка многих центральных систем организма, участвующих в поддержании гомеостаза, что позволяет также рекомендовать их для лечения заболеваний, вызванных воздействием на организм таких факторов как стресс, физическая нагрузка, ионизирующая радиация, при профилактике побочных явлений радиотерапии, для активации процессов репарации; при лечении заболеваний печени (циррозы, гепатиты различной этиологии); состояний, связанных с интоксикацией веществами, активирующими перекисное окисление липидов, например, при алкоголизме; в качестве профилактических препаратов на производствах, связанных с получением химических реактивов и при контактах с токсическими веществами.

Активность соединений общей формулы (I), нормализующая показатели липидного обмена, а также их антигипоксическая и противоишемическая эффективность, позволяет предложить их для профилактики и лечения заболеваний, связанных с нарушениями липидного обмена, характеризующимися повышением содержания триглицеридов, общего холестерина (ХС), холестерина в составе липопротеинов низкой и очень низкой плотности (ЛПНП и ЛПОНП) и снижением содержания холестерина в составе липопротеинов высокой плотности, таких как атеросклероз, ожирение, ишемическая болезнь сердца и головного мозга, инфаркта миокарда, инсульта, которые служат фактором риска манифестации сахарного диабета и тромбообразования.

Стабилизирующее гомеостаз организма действие соединений общей формуле (I) дает основание рекомендовать их для лечения сахарного диабета.

Соединения данного изобретения достоверно ингибируют рост перевиваемой опухоли и процесс ее метастазирования, повышают резистентность животных к микробным и вирусным инфекциям.

Ингибирование процессов роста опухоли и метастазирования связано с рядом биологических действий соединений общей формулы (I): с изменением состояния системы цитохрома Р-450, изменением гормонального статуса, их антиоксидантными и антирадикальными свойствами, увеличением активности фагоцитов (нейтрофилов и

перитонеальных макрофагов), НК-клеток и продукции интерферонов (цитокинов) при стрессовом воздействии, позволяет использовать их при лечении онкологических заболеваний, так как известно, что все перечисленные системы активно участвуют в поддержании

5 гомеостаза организма и существенно изменены при данных заболеваниях. Еще одним объяснением антиметастатического действия исследованных соединений может быть снижение образования 12-НЕТЕ, так как известно, что данный метаболит арахидоновой кислоты потенцирует процесс метастазирования [Honn

10 K.V., Tang D.G., Gao X., Butovich I.A., Liu B., Timar J., Hagmann W.// Cancer and Metastasis Reviews.- 1994.- vol. 13.- Iss 3-4.- pp. 365-96.- Ref: 195.]. Повышение соотношения простациклина/тромбоксан также может играть определенную роль в антиметастатическом эффекте соединений. Кроме этого, соединения

15 повышают противоопухолевую активность циклофосфана, широко используемого в практике лечения онкологических больных. Важным свойством соединений является то, что они проявляет лечебные свойства при пероральном введении. При использовании лекарственной формы терапевтическая активность сопоставима с

20 применением субстанции. Факт снижения количества метастазов имеет большое практическое значение, поскольку скорость течения этого процесса исключительно важна и ее торможение приводит к более благоприятному прогнозу при канцерогенезе.

Установлено, что нормализация выше перечисленных

25 показателей, и особенно повышение количества активных перитонеальных макрофагов у животных при введении соединения общей формулы (I), а также повышение количества активных НК-клеток при стрессовом воздействии, принимающих активное участие в поддержании иммунного статуса организма и повышение продукции γ -

30 интерферона, который ингибирует in vitro пролиферацию клеток трансформированных вирусом является объяснением повышения резистентности животных к микробным и вирусным инфекциям. Особо следует подчеркнуть защитный эффект соединений при цитодеструктивном действии вируса иммунодефицита человека.

35 Противовирусное действие соединений также может быть связано с нормализацией перекисного окисления липидов.

Наличие способности соединений общей формулы (I) потенцировать митоген-индуцированную бласттрансформацию лимфоцитов человека, может служить основанием для применения исследуемых соединений при поражении кожных покровов, в частности для ускорения заживления ран [Koyama, Masayoshi; Takahashi, Mikiko; Yanagawa, Masayoshi EP 95-107298 950513; JP 94-115161 940527 /Preparation of L-lysyl-glycyl-L-histidine and therapeutic agent for wound healing containing the same// Eur. Pat. Appl., 5 pp.]

Таким образом, исследованные соединения общей формулы (I) можно рекомендовать для лечения онкологических заболеваний, бактериальных и вирусных инфекций и, что особо следует подчеркнуть, при лечении ВИЧ-инфекции.

Широкий спектр действия соединений, соответствующих общей формуле (I), может быть отчасти объяснен тем, что эти вещества действуют на центральные системы организма, стабилизирующие гомеостаз, например, систему цитохрома P-450, ПОЛ и систему фагоцитоза. Известно, что в живом организме изменение активности одной системы влечет за собой изменения в других и эти изменения принимают каскадный характер. При введении веществ общей формулы (I) в организм наступает нормализация многих его функций, что позволяет отнести их к адаптогенам.

Объектом настоящего изобретения является также способ лечения и профилактики заболеваний теплокровных, включающих: стрессовые состояния; аллергические заболевания, протекающие по немедленному и замедленному типу действия - бронхиальная астма, пищевая аллергия, анафилактический шок, аллергические экземы, а также псориаз; атеросклероз, ишемическая болезнь (сердца, головного мозга), ожирение; сахарный диабет 1 и 2 типа; алкоголизм, алкогольная интоксикация; варикозное расширение вен и профилактика тромбообразования; гепатит, цирроз печени; токсические поражения печени; заболевания нервной системы, болезнь Паркинсона; геронтологические заболевания: катаракта, старческое изменение кожных покровов; радиационное поражение, устранение последствий радиотерапии; вирусные и бактериальные инфекции, в частности, ВИЧ-инфекция; онкологические заболевания;

тяжелая физическая нагрузка; для ускорения ранозаживления, включающей введение новых или известных соединений общей формулы (I) в эффективном количестве. Соединения общей формулы (I) могут использоваться в медицине и ветеринарии для лечения и

5 профилактики вышеперечисленных заболеваний.

Далее представлены конкретные примеры для иллюстрации настоящего изобретения, которые не должны рассматриваться как какое-либо ограничение объема данного изобретения.

В представленных ниже примерах используют следующую

10 аббревиатуру:

ААШ	- активный анафилактический шок
АК	- арахидоновая кислота
АЛТ	- аланинаминотрансфераза
АН	- активированные нейтрофилы
АсК	- аскорбиновая кислота
АСТ	- аспартатаминотрансфераза
АФК	- активные формы кислорода
ВЭЖХ	- высокоэффективная жидкостная хроматография
ГЗТ	- гиперчувствительность замедленного типа
ГНТ	- гиперчувствительность немедленного типа
15 ГС	- тексеналовый сон
ДМФ	- диметилформамид
ИИМ	- индекс ингибирования метастазирования
ЛД	- летальная доза
ЛК	- линолевая кислота
20 ЛО	- липоксигеназный путь
ЛПВП	- липопротеины высокой плотности
ЛПНП	- липопротеины низкой плотности
ЛПОНП	- липопротеины очень низкой плотности
ЛТ	- лейкотриены
25 МДА	- малоновый диальдегид
МФ	- макрофаги
НК	- нейтральный красный
НК	- клетки - натуральные киллеры
НТС	- нитросиний тетразолий (формазан)
30 ОВА	- куриный овальбумин

	ПГ	- простагландины
	ПКА	- пассивная кожная анафилаксия
	ПМ	- перитонеальные макрофаги
	ПОЛ	- перекисное окисление липидов
5	СПЖ	- средняя продолжительность жизни
	СХС	- свободный холестерин
	ТБК	- тиобарбитуровая кислота
	ТГ	- триглицериды
	ТГлу	- транслгутаминаза
10	ТК	- тучные клетки
	ТМС	- тетраметилсилан
	ТХУ	- трихлоруксусная кислота
	ТХ	- тромбоксан
	ТСХ	- тонкослойная хроматография
15	ТЦИД	- тканевая цитопатическая доза
	Ф	- фосфолипиды
	ФБ	- фенобарбитал
	ФГ	- фагоциты
	ФР	- физиологический раствор
20	ХЛ	- хемилюминесценция
	ХС	- холестерин
	ЦНС	- центральная нервная система
	ЦО	- циклооксигеназный путь
	ЭДТА	- этилендиамид- тетраацетат
25	ЯМР	- ядерный магнитный резонанс
	Bu ^t ОН	- трет-бутанол
	Bu ^t	- трет-бутил
	Bzl	- бензил
	Boc	- трет-бутилоксикарбонил
30	DCC	- N,N'-дициклогексилкарбодиимид
	DCU	- N,N'-дициклогексилмочевина
	DMF	- N,N'-диметилформамид
	Et ₃ N	- триэтиламин
	EtOAc	- этилацетат
35	EtOH	- этанол
	ЕЕТ	- эпоксиэйкозатриеновая кислота

	GA	- глутаровая кислота
	Glu	- глутаминовая кислота
	F	- кортизол
	HA	- гистамин
5	HETE	- (S)-гидрокси-6,8,11,14-эйкозатетраеновая кислота
	5-HT	- 5-гидрокситриптамин (серотонин)
	Ind	- индол
	Im	- имидазол
	MeCN	- ацетонитрил
10	MeOH	- метанол
	OBu ^t	- трет-бутиловый эфир
	ONSu	- N-оксисукцинил
	OPfp	- пентафторфенил
	Pu	- пиридин
15	P-450B	- группа цитохромов P-450 с активным центром, ориентированным в цитозоль
	P-450L	- группа цитохромов P-450 с активным центром, ориентированным в фосфолипидную мембрану
	TrpA	- триптамин
20	TFA	- трифторуксусная кислота
	Z	- бензилоксикарбонил

Производные глутаминовой, аспарагиновой кислоты, гистидина, триптофана, орнитина, используемые в синтезах, являются производными L-ряда, использование D-производных указано особо.

- 25 Индивидуальность полученных соединений проверяют методом ТСХ на пластинках «Silufol» фирмы Kavalier, UV-254 (Чехословакия) в системах растворителей : хлороформ-метанол 9:1 (1), хлороформ-метанол 8:2 (2), н-бутанол-уксусная кислота-вода 4:1:5 (3); на пластинках «Kieselgel» фирмы «Merck» в системе растворителей
- 30 хлороформ-метанол-25% водный аммиак 5:3:1 (4); на пластинках «Silufol»: хлороформ-метанол 9,3:0,7 (5); хлороформ-метанол-25% водный аммиак 5:3:0,5 (6), хлороформ-метанол 8,5:1,5 (7); изопропанол-вода-25% водный аммиак 6:3:1 (8), хлороформ (9), на пластинках «Kieselgel» фирмы «Merck» в системе растворителей
- 35 изопропанол-вода-25% водный аммиак 6:1:3 (10).

Хроматограммы проявляют хлор-толидиновым раствором,

реактивами Паули и Эрлиха, нингидрином и в УФ-свете.

Температуры плавления веществ определяют на приборе «Boetius» (Германия).

¹H-ЯМР спектры снимают на приборе Bruker WM-250»
5 (Германия) и «Varian XL-400» (Япония) с ТМС в качестве
внутреннего стандарта.

Масс-спектрометрию осуществляют на приборе МСБХ (Украина,
г.Сумы) методом плазменно-десорбционной ионизации осколками ядер
калий-252.

10 Аналитическую обращенно-фазовую ВЭЖХ проводят в условиях
(1): колонка МПС-270 С-18 (4,0 x 250 мм), 10 мкм, элюция 4%
ацетонитрилом в воде, содержащей 0.1% ТФА; (2): колонка та же,
элюция градиентом от 10% до 50% фазы В в фазе А за 20 мин; фаза
А - 0.1% ТФА в воде, фаза В - 0.09% ТФА в смеси ацетонитрила и
15 воды 60:40; (3): колонка МПС 300 С18Т (4,0 x 250 мм), 10 мкм,
элюция градиентом от 0% до 40% фазы В за 20 мин. фаза А - 0.1%
ТФА в воде, фаза В - 0.09% ТФА в смеси ацетонитрила и воды
(60:40); (4): колонка МПС 270 С18 (4,0 x 250 мм) 10 мкм, элюция
0.1М Na₂HPO₄, pH 2.3; (5) : колонка та же, но элюция 0.1М
20 Na₂HPO₄, pH 2.7; (6) : колонка Диасорб 130С18Т (4.0 x 150 мм), 7
мкм, элюция градиентом от 0% до 42% ацетонитрила в 0.1% ТФА; (7)
: колонка МПС 300 С18Т (4.0 x 250 мм), 10 мкм элюция градиентом
от 0% до 18% ацетонитрила в 0.1% ТФА за 20 мин; (8): колонка
Lichrosorb RP-18 (4.6 x 250 мм), 5 мкм, элюция градиентом от 6%
25 до 24% ацетонитрила в 0.1% ТФА за 20 мин; (9): колонка Диасорб
130 С 16Т (4.0 x 150 мм), элюция 0,1% ТФА; (10): колонка Диасорб
130 С 16Т (4.0 x 150 мм), 7 мкм, элюция градиентом от 0% до 24%
ацетонитрила в 0.1% ТФА за 30 мин; (11): колонка та же, элюция
градиентом от 3% до 54% ацетонитрилом в 0.1% ТФА за 30 мин;
30 (12): колонка та же, элюция градиентом от 0% до 30% ацетонитрила
в 0.1% ТФА за 30 мин; (13): колонка МПС С18Т (4.0x250мм), элюция
градиентом от 12% до 60% ацетонитрила в 0.1% ТФА за 20 мин;
(14): колонка МПС-270, (4.0x250мм), 10 мкм, элюция градиентом от
0% до 60% ацетонитрила в 0.1% ТФА за 20 мин; (15): колонка
35 Диасорб 130 С 16Т (4.0 x 150 мм), 7 мкм, элюция градиентом от 0%
до 60% ацетонитрила в 0.1% ТФА за 30 мин; (16): колонка Диасорб

130 С 16Т (4.0 х 150 мм), 7 мкм, элюция градиентом от 60% до 100% ацетонитрила в 0.1% ТФА за 15 мин.

Во всех случаях ВЭЖХ проводят при скорости элюции 1 мл/мин с детекцией при 214 нм.

5

ПРИМЕР 1

СУКЦИНИЛГИСТАМИН (II)

К раствору 0.080 г (0.72 ммоль) гистамина в 4 мл DMF при перемешивании добавляют 0.072 г (0.72 ммоль) янтарного ангидрида. Реакционную смесь перемешивают 1 ч и оставляют на 20 ч при 20°C. Растворитель удаляют в вакууме. Маслообразный остаток растворяют в 1.5 мл этанола, прибавляют 4 мл сухого эфира, растирают и выдерживают 30 мин при 4°C. Осадок отделяют и трижды перекристаллизовывают из метанола. Выход 0.075 г (49.2 %). R_f 0.41(4). Т.пл. 153-155°C. ВЭЖХ в условиях (6): один пик, время выхода 7.77 мин. ^1H -ЯМР спектр, (CD_3OD), δ , м.д.: 2.42 (т, 2Н, $-\text{CH}_2\text{CONH}$), 2.55 (т, 2Н, $\text{HOOC}-\text{CH}_2$), 2.8 (т, 2Н, $\beta-\text{CH}_2-\text{HA}$), 3.4 (т, 2Н, $\alpha-\text{CH}_2-\text{HA}$), 7.0 (с, 1Н, $\text{CH}-5-\text{Im}$), 8.0 (с, 1Н, $\text{CH}-2-\text{Im}$). Масс-спектр; m/z : $[\text{M}+1\text{H}]^+$ 212.2.

20

ПРИМЕР 2

ГЛУТАРИЛГИСТАМИН (III)

К раствору 0.366 г (3.3 ммоль) гистамина в 5 мл DMF прибавляют 0.376 г (3.3 ммоль) глутарового ангидрида. Реакционную смесь перемешивают 3 ч и оставляют на 20 ч при 20°C. Белый осадок отделяют, сушат в вакууме, перекристаллизовывают. Выход 0.510 г (70,0%). R_f 0.36 (6), 0.34 (4). Т.пл. 187-189°C. ВЭЖХ в условиях (7): один пик, время выхода 14.36 мин. ^1H -ЯМР спектр (D_2O), δ , м.д.: 1.72 (м, 2Н, $\beta-\text{CH}_2$), 2.18 (м, 4Н, $\alpha, \gamma-\text{CH}_2$), 2.85 (т, 2Н, $\beta-\text{CH}_2-\text{HA}$), 3.5 (т, 2Н, $\alpha-\text{CH}_2-\text{HA}$), 7.25 (с, 1Н, $\text{CH}-5-\text{Im}$), 8.5 (с, 1Н, $\text{CH}-2-\text{Im}$). Масс-спектр, m/z : $[\text{M}+1\text{H}]^+$ 226.1.

30

ПРИМЕР 3

ХЛОРИДРАТ АДПИНИЛГИСТАМИНА (IV).

35 К раствору 0.197 г (1.35 ммоль) адипиновой кислоты в 2.5 мл

DMF при 0°C прибавляют 0.278 г (1.35 ммоль) DCC. Реакционную смесь перемешивают при 0°C 30 мин и прибавляют раствор 0.150 г (1.35 ммоль) гистамина в 1 мл DMF и оставляют при 20°C на 20 часов. Осадок DCU отделяют фильтрованием. К реакционной смеси 5 прибавляют 10 мл сухого эфира и оставляют на 1 час при 0°C. Маслообразный остаток растворяют в этаноле и прибавляют 0.2 мл 4N HCl в диоксане. Растворитель удаляют в вакууме. Остаток промывают эфиром, растворяют в смеси хлороформ-этанол 1.5:1 и очищают на колонке с силикагелем 40/100 (22x175 мм). Элжируют 10 смесью хлороформа и этанола от 7:3 до 2:8, этанолом, метанолом и смесью метанола-AsOH-H₂O 8:1:0.5. Фракции, содержащие целевое вещество с R_f 0.25(6), объединяют, растворитель удаляют в вакууме, сушат над P₂O₅. Выход 0.129 г (40%). R_f 0.25 (6). ВЭЖХ в условиях (11): один пик, время выхода 3.6 мин. ¹H-ЯМР спектр 15 (CD₃OD), δ, м.д.: 1.6 (м, 4H, β,γ-CH₂), 2.3 (м, 4H, α,δ-CH₂), 3.0 (т, 2H, β-CH₂-NA), 3.55 (т, 2H, α-CH₂-NA), 7.25 (с, 1H, CH-5-Im), 8.65 (с, 1H, CH-2-Im).

ПРИМЕР 4

20 N^α-АЦЕТИЛ-γ-L-ГЛУТАМИЛГИСТАМИН (V)

К 0.10 (0.405 ммоль) γ-L-глутамилгистамина прибавляют 5 мл воды и перемешивают до растворения основной массы вещества. К реакционной смеси прибавляют 2.5 мл диоксана и 0.073 г (0.405 25 ммоль) п-нитрофенилацетата, перемешивают 2 ч и оставляют на 18 ч при 20 °C. Растворитель удаляют в вакууме при 40°C. Остаток растворяют в минимальном количестве метанола и очищают колоночной хроматографией на Kieselgel 60, элжируют метанолом. Фракции, содержащие целевое вещество с R_f 0.3 (4), объединяют, 30 растворитель удаляют в вакууме. Получают бесцветное стеклообразное вещество. Выход 0.046 г (40.0 %). R_f 0.3 (4). ВЭЖХ в условиях (3): один пик, время выхода 10.77 мин. ¹H-ЯМР спектр (CD₃OD), δ, м.д.: 2.0-2.3 (м, 2H, β-CH₂), 2.19(с, 3H, CH₃CO), 2.45 (т, 2H, γ-CH₂), 3.07 (т, 2H, β-CH₂-NA), 3.64 (т, 1H, 35 α-CH₂NH-NA), 3.65 (т, 1H, α-CH₂NH-NA), 4.42 (т, 1H, α-CH), 7.42

(д, 1H, CH-5-Im), 8.69 (д, 1H, CH-2-Im).

ПРИМЕР 5

5.1. МЕТИЛОВЫЙ ЭФИР N^α-ТРЕТ.-БУТИЛОКСИКАРБОНИЛ-α-БЕНЗИЛ-L-ГЛУТАМИЛ-ГИСТИДИНА (VI^a)

К раствору 0.30 г (1.16 ммоль) дигидрохлорида метилового эфира L-гистидина, полученному нагреванием до 40°C с 4 мл безводного метанола с последующим охлаждением до 0°C, прибавляют холодный раствор метилата натрия, полученный из 0.053 г металлического натрия (2.32 ммоль) и 1 мл метанола. Оставляют на 20 мин при 0°C, затем прибавляют равный объем сухого эфира и оставляют на 20 мин при 0°C. Осадок хлористого натрия отделяют, растворитель из фильтрата удаляют в вакууме. Остаток растворяют в 3.5 мл DMF и прибавляют 0.604 г (1.16 ммоль) Вос-L-Glu(OPfp)-OBzl. Реакционную смесь перемешивают 2 ч и оставляют на 20 ч. DMF удаляют в вакууме. Маслообразный остаток очищают на колонке 30x1.6 см с силикагелем 100/160, элюируют смесью хлороформ:метанол (9:1). Фракции, содержащие целевой продукт, объединяют, растворитель удаляют в вакууме. Целевое вещество сушат над P₂O₅. Выход 0.334 г (55.0%). R_f 0.35 (1). ¹H-ЯМР спектр (CD₃OD): 1.45 (с, 9H, (CH₃)₃C), 2.0 (м, 2H, β-CH₂), 2.3 (т, 2H, γ-CH₂), 3.0 (д, 2H, β-CH₂-His), 3.7 (с, 3H, CH₃O), 4.1 (т, 1H, α-CH), 4.55 (т, 1H, α-CH-His), 5.15 (м, 2H, CH₂-Bzl), 6.85 (с, 1H, CH-5-Im), 7.35 (м, 5H, C₆H₅-Bzl), 7.6 (с, 1H, CH-2-Im).

5.2. ДИГИДРОХЛОРИД МЕТИЛОВОГО ЭФИРА

γ-L-ГЛУТАМИЛ-L-ГИСТИДИНА (VI)

К раствору 0.30 г Вос-L-Glu(HisOMe)-OBzl (VI^a) в 1мл MeOH прибавляют 3 мл 4 н раствора хлористого водорода в диоксане. Через 30 мин прибавляют 5 мл сухого эфира. Растворители удаляют в вакууме, добавляют сухой эфир и также удаляют в вакууме. Остаток растирают с сухим эфиром. Эфир отделяют декантацией. Белое твердое вещество сушат над P₂O₅ в вакууме. Получают 0.25 г

2HCl•L-Glu(HisOMe)OBzl.

К раствору 0.140 г полученного вещества в 4.5 безводного метанола прибавляют 0.10 г 10%-го палладия на активированном угле и перемешивают 2.5 ч, периодически пропуская ток водорода. Катализатор отделяют, промывают на фильтре MeOH. Растворитель из объединенного фильтрата удаляют в вакууме. К остатку добавляют сухой эфир и также удаляют в вакууме. Вещество сушат в вакууме над P₂O₅. Выход 0.103 г (90.3%). R_f 0.35 (6). ВЭЖХ в условиях (9): один пик, время выхода 6.16 мин. ¹H-ЯМР спектр (CD₃OD), δ, м.д.: 2.15 (м, 2H, β-CH₂), 2.55 (т, 2H, γ-CH₂), 3.15 (т, 1H, α-CH), 3.75 (с, 3H, CH₃O), 4.0 (т, 1H, α-CH-His), 4.8 (д, 2H, β-CH₂-His), 7.4 (с, 1H, CH-5-Im), 8.81 (с, 1H, CH-2-Im). Масс-спектр, m/z: 299.1.

15 ПРИМЕР 6

МЕТИЛОВЫЙ ЭФИР ГЛУТАРИЛ-L-ГИСТИДИНА (VII).

К раствору 0.30 г (1.16 ммоль) дигидрохлорида метилового эфира L-гистидина, полученному нагреванием до 40°C в 4 мл безводного метанола с последующим охлаждением до 0°C, прибавляют холодный раствор метилата натрия, полученный из 0.053 г (2.32 ммоль) металлического натрия и 1 мл метанола. Реакционную смесь оставляют на 20 мин при 0°C, затем прибавляют равный объем сухого эфира и оставляют на 20 мин при 20°C. Осадок хлористого натрия отделяют, растворитель удаляют в вакууме. Остаток растворяют в 3.5 мл DMF и прибавляют 0.132 г (1.16 ммоль) глутарового ангидрида. Реакционную смесь перемешивают 2 ч и оставляют на 20 ч при 20°C. Растворитель удаляют в вакууме. Маслообразный остаток очищают на колонке (30x1.6 см) с силикагелем 100/160, элюируют метанолом. Фракции, содержащие целевой продукт, объединяли. Растворитель удаляют в вакууме, сушат над P₂O₅. Выход 0.095г (28%). R_f 0.43 (10). ВЭЖХ в условиях (8): один пик, время выхода 9.95 мин. ¹H-ЯМР спектр (CD₃OD), δ, м.д.: 1.85 (м, 2H, β-CH₂), 2.25 (т, 4H, α,γ-CH₂), 3.05 (д, 2H, β

-CH₂-His), 3.7 (с, 3H, CH₃O), 4.67 (т, 1H, α-CH-His), 6.92 (с, 1H, CH-5-Im), 7.72 (с, 1H, CH-2-Im). Масс-спектр, m/z: 284.4.

ПРИМЕР 7

5

7.1. ПЕНТАФТОРФЕНИЛОВЫЙ ЭФИР N-БЕНЗИЛОКСИКАРБОНИЛ-γ-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ (VIII^a)

К 0.60 г (2.53 ммоль) N-бензилоксикарбонил-γ-аминомасляной
10 кислоты прибавляют 9 мл безводного этилацетата, перемешивают и охлаждают до 0°C. Прибавляют 0.52 г (2.53 ммоль) DCC и 0.465 (2.53 ммоль) пентафторфенола. Реакционную смесь перемешивают при охлаждении 2 ч, после чего оставляют на 20 ч при 20°C. Осадок DCU отделяют, промывают безводным этилацетатом.
15 Фильтраты объединяют, растворитель удаляют в вакууме. Получают белые, слегка желтоватые кристаллы Z-γ-Abu-OPfr, которые сушат в вакууме. Выход 1.05 г (98.0%). R_f 0.85 (1).

20

7.2. МЕТИЛОВЫЙ ЭФИР N-БЕНЗИЛОКСИКАРБОНИЛ-γ-АМИНОБУТИРИЛ-L-ГИСТИДИНА (VIII^b)

К 0.30 г (1.16 ммоль) дихлоргидрата метилового эфира L-гистидина прибавляют 4 мл безводного метанола и нагревают до растворения. Раствор охлаждают до 0°C и прибавляют охлажденный
25 раствор метилата натрия, приготовленный из 0.053 г (2.32 ммоль) металлического натрия и 1 мл безводного метанола. Реакционную смесь оставляют при 0°C на 20 мин, прибавляют равный объем сухого эфира и оставляют при 20°C на 20 мин. Осадок хлористого натрия отделяют. Растворитель из фильтрата удаляют в вакууме. К
30 маслообразному остатку прибавляют 5 мл безводного DMF, 0.50 г (1.24 ммоль) Z-γ-Abu-OPfr и оставляют на 20 ч при 20°C. Растворитель удаляют в вакууме. Остаток очищают колоночной хроматографией на силикагеле L 40/100, элюируют хлороформом и градиентом метанола в хлороформе до соотношения 2:8. Фракции,
35 содержащие целевое вещество с R_f 0.46 (2), объединяют, растворитель удаляют в вакууме. К полученному остатку прибавляют

избыток сухого эфира с 1 каплей триэтиламина, растирают. Белое твердое вещество отделяют, промывают сухим эфиром, сушат в вакууме. Выход 0.243 г (65.0%), R_f 0.46(2). Масс-спектр, m/z : 375.

5

7.3. МЕТИЛОВЫЙ ЭФИР γ -АМИНОБУТИРИЛ-L-ГИСТИДИНА (VIII).

К 0.04 г (0.124 ммоль) Z- γ -Abu-L-His-OMe прибавляют 7 мл безводного метанола, 0.04 г 10%-го палладия на активированном
10 угле и гидрируют 1 час при перемешивании. После полного превращения исходного вещества с R_f 0.46 (2) в целевой продукт с R_f 0(2) катализатор отделяют, промывают метанолом. Фильтраты объединяют, растворитель удаляют в вакууме. Получают бесцветное вязкое масло. Выход 0.030 г (90.0 %). R_f 0.05 (3), R_f 0.1 (4).
15 ВЭЖХ в условиях (1): один пик, время выхода 4.8 мин. 1H -ЯМР спектр (CD_3OD), δ , м.д.: 1.85 (м, 2H, β -CH₂), 2.23 (т, 2H, γ -CH₂), 2.95 (д, 2H, β -CH₂-His), 3.1 (т, 2H, α -CH₂), 3.7 (с, 3H, CH₃O), 4.65 (т, 1H, α -CH-His), 6.85 (с, 1H, CH-5-Im), 7.6 (с, 1H, CH-2-Im).

20

ПРИМЕР 8

8.1. N ^{α} -ТРЕТ.-БУТИЛОКСИКАРБОНИЛ- α -БЕНЗИЛ-L-ГЛУТАМИЛГИСТИДИН (IX^a)

25

К раствору 0.100 г (0.645 ммоль) L-гистидина в 3 мл воды при перемешивании прибавляют 0.75 мл диоксана и затем порциями в течение 2 ч 0.560 г (1.29 ммоль) Boc-L-Glu(ONSu)OBzl и 2.25 мл диоксана (до соотношения диоксан:вода 1:1). Образовавшуюся
30 суспензию перемешивают 2 ч и оставляют на 20 ч при 20°C, после чего суспензия превращается в раствор. Растворитель удаляют в вакууме. Маслообразный остаток очищают на колонке 30 x 1.6 см с силикагелем 100/160, элюируют смесью хлороформ-метанол 5:1, постепенно увеличивая содержание MeOH до 50%. Фракции,
35 содержащие целевой продукт, объединяют, растворитель удаляют в вакууме. Получают белое твердое вещество. Выход 0.150 г (45.7%).

R_f 0.48 (3). 1H -ЯМР спектр, (CD_3OD) δ , м.д.: 1.4 (с, 9H, $(CH_3)_3C$), 1.98 (м, 2H, β - CH_2), 2.3 (т, 2H, γ - CH_2 -Glu), 3.1 (м, 2H, β - CH_2 -His), 4.07 (т, 1H, α -CH), 4.5 (т, 1H, α -CH-His), 5.18 (м, 2H, CH_2 -Bzl), 7.17 (с, 1H, CH-5-Im), 7.35 (м, 5H, C_6H_5), 8,4 (с, 1H, CH-2-Im).

8.2. ДИХЛОРГИДРАТ α -МЕТИЛОВОГО ЭФИРА γ -L-ГЛУТАМИЛГИСТИДИНА (IX)

К раствору 0.140 г Boc-L-Glu(His)-OBzl (IX^a) в 1 мл безводного метанола прибавляют 3 мл 4 н раствора хлористого водорода в диоксане и выдерживают 40 мин при 20°C. К реакционной смеси прибавляют эфир, и растворители удаляют в вакууме. К остатку дважды прибавляют порциями эфир и удаляют в вакууме. Осадок растирают с эфиром до образования белого твердого вещества. Эфир декантируют, остаток сушат в вакууме и очищают препаративной бумажной хроматографией в системе бутанол-уксусная кислота-вода 4:1:5, верхняя фаза. Получают 0.12 г (95.8%) дихлоргидрата дипептида, R_f 0.26 (3). К раствору 0.117 г полученного продукта в 4.5 мл безводного метанола прибавляют 0.096 г 10%-го палладия на активированном угле. Реакционную смесь перемешивают 2.5 ч, периодически пропуская ток водорода. Катализатор отделяют, промывают на фильтре 5 мл MeOH. Фильтраты объединяют, растворитель удаляют в вакууме. Остаток сушат в вакууме над P_2O_5 . Выход 0.091 г (96.1%). R_f 0.3(6). ВЭЖХ в условиях (10): один пик, время выхода 5.40 мин. Масс-спектр, m/z : 299.2. 1H -ЯМР спектр (CD_3OD), δ , м.д.: 2.15 (м, 2H, β - CH_2), 2.55 (т, 2H, γ - CH_2), 3.16 (т, 1H, α -CH), 3.75 (с, 3H, CH_3O), 3.99 (т, 1H, α -CH-His), 4.8 (дд, 2H, β - CH_2 -His), 7.38 (с, H, CH-5-Im), 8.80 (с, H, CH-2-Im).

ПРИМЕР 9

9.1. N-БЕНЗИЛОКСИКАРБОНИЛ- γ -АМИНОБУТИРИЛТРИПТАМИН (X^a)

К раствору 0,252 г (0,625 ммоль) Z- γ -Abu-OPfp в 5 мл DMF

прибавляют 0.10 г (0.625 ммоль) триптамина и перемешивают при 25°C 2ч. Реакционную смесь оставляют на 16 ч при той же температуре, после чего прибавляют 7-кратный избыток воды (по 5 объему). Белый творожистый осадок отфильтровывают, промывают на фильтре водой, сушат. Выход 0.22 г (93.0%). R_f 0.6 (5), R_f 0.54 (3). Масс-спектр, m/z : 380.6

9.2. γ -АМИНОБУТИРИЛТРИПТАМИН (X)

10 К 0.133 г (0.35 ммоль) Z- γ -Abu-TrpA прибавляют 7 мл безводного метанола, перемешивают до растворения основной массы вещества, прибавляют 0.133 г 10%-го палладия на активированном угле и гидрируют 1 ч. После полного превращения исходного 15 вещества с R_f 0.6 (5) в целевой продукт с R_f 0 (5) катализатор отделяют, промывают метанолом. Фильтраты объединяют, растворитель удаляют в вакууме. Получают бесцветное вязкое масло. Выход 0.086 г (99.0%). R_f 0.43 (3). ВЭЖХ в условиях (2): 20 один пик, время выхода 18.5 мин. 1H -ЯМР спектр (CD_3OD), δ , м.д.: 1.65 (м, 2H, β -CH₂), 2.05 (т, 2H, γ -CH₂), 2.85 (т, 2H, β -CH₂-TrpA), 3.0 (т, 2H, α -CH₂), 3.45 (м, 2H, α -CH₂-TrpA), 6.95 (с, 1H, CH-2-Ind), 6.99 (м, 1H, CH-5-Ind), 7.05 (м, 1H, CH-6-Ind), 7.28 (д, 1H, CH-7-Ind), 7.48 (д, 1H, CH-4-Ind).

ПРИМЕР 10

25 ГЛУТАРИЛ-О-БЕНЗИЛСЕРОТОНИН (XI)

К суспензии 0.20 г (0.66 ммоль) хлоргидрата О-бензилсеротонина в 3 мл DMF прибавляют при перемешивании 0.09 мл (0.66 ммоль) триэтиламина, а затем 0.075 г (0.66 ммоль) 30 глутарового ангидрида. Реакционную массу перемешивают 1 ч и оставляют на 20 ч при 20°C. Осадок хлоргидрата триэтиламина отделяют, растворитель удаляют в вакууме. Маслообразный остаток очищают на колонке 31 x 1.5 см с силикагелем Silica gel 60, 0.063-0.2 мм (Merck). Элюируют смесью хлороформ - метанол 9:1. 35 Фракции, содержащие целевой продукт, объединяют, растворитель

удаляют в вакууме. Получают бесцветный стеклообразный продукт. Выход 50 мг. (20 %). R_f 0.48 (1). ВЭЖХ в условиях (14): один пик, время выхода 23.8 мин. 1H -ЯМР спектр (CD_3OD), δ , м.д.: 2.05 (м, 2H, β - CH_2 -GA), 2.45 (м, 4H, α, γ - CH_2 -GA), 3.1 (т, 2H, β - CH_2), 3.67 (т, 2H, α - CH_2), 5.3 (с, 2H, CH_2 -Bzl), 7.0 (дд, 1H, CH -6-Ind), 7.1-7.7 (м, 8H, CH -7-Ind, CH -2-Ind, CH -4-Ind, C_6H_5).

ПРИМЕР 11

N-ГЛУТАРИЛСЕРОТОНИН (XII)

К 25 мг (0.065 ммоль) глутарил-О-бензилсеротонина прибавляют 4 мл безводного метанола. К раствору добавляют 30 мг катализатора - палладия на активированном угле и гидрируют 1 ч при перемешивании. Катализатор отфильтровывают. Растворитель из 15 фильтрата удаляют в вакууме. Выход 17 мг (90%). R_f 0.31 (1). ВЭЖХ в условиях (14): один пик, время выхода 16.27 мин. 1H -ЯМР спектр (CD_3OD), δ , м.д.: 2.0 (м, 2H, β - CH_2 -GA), 2.5 (м, 4H, α, γ - CH_2 -GA), 3.0 (т, 2H, β - CH_2), 3.65 (т, 2H, α - CH_2), 6.85 (дд, 1H, 6- CH -Ind), 7.15 (д, 1H, CH -4-Ind), 7.25 (с, 1H, CH -2-Ind), 7.4 20 (д, 1H, CH -7-Ind).

ПРИМЕР 12

ГЛУТАРИЛ-5-О-МЕТИЛСЕРОТОНИН (XIII)

25

К раствору 0.20 г (1.05 ммоль) О-метилсеротонина в 3 мл DMF прибавляют при перемешивании 0.12 г (1.05 ммоль) глутарового ангидрида. Реакционную массу перемешивают 1 ч и оставляют на 20 ч при 20°C. Растворитель удаляют в вакууме. Маслообразный 30 остаток очищают на колонке 31 x 1.5 см с силикагелем Silica gel 60, 0.063-0.2 мм (Merck). Элжируют смесью хлороформа и метанола 9:1. Фракции, содержащие целевой продукт, объединяют, растворитель удаляют в вакууме. Получают бесцветное стеклообразное вещество. Выход 0.095 г (29.8%). R_f 0.51 (1). 35 ВЭЖХ в условиях (14): один пик, время выхода 19.0 мин. 1H -ЯМР спектр ($CDCl_3+CD_3OD$), δ , м.д.: 1.95 (м, 2H, β - CH_2 -GA), 2.37 (м,

4H, α, γ -CH₂-GA), 3.0 (т, 2H, β -CH₂), 3.56 (т, 2H, α -CH₂), 3.92 (с, 3H, CH₃O), 6.83 (дд, 1H, CH-6-Ind), 7.1 (д, 2H, CH-2,4-Ind), 7.31 (д, 1H, CH-7-Ind).

5 ПРИМЕР 13

ГЛУТАРИЛ-ТРИПТАМИН (XVII)

К раствору 0.15 г (0,94 ммоль) триптамина в 3 мл DMF прибавляют при перемешивании 0.107 г (0,94 ммоль) глутарового ангидрида. Реакционную массу перемешивают 1 ч и оставляют на 20 ч при 20°C. Растворитель удаляют в вакууме. Маслообразный остаток очищают на колонке 31 x 1.5 см с силикагелем Silica gel 60, 0.063-0.2 мм (Merck). Элюируют смесью хлороформа и метанола 9:1. Фракции, содержащие целевой продукт, объединяют, растворитель удаляют в вакууме. Получают бесцветное стеклообразное вещество. Выход 0.2 г (78%). R_f 0.41 (1). ВЭЖХ в условиях (14): один пик, время удерживания 18.95 мин. ¹H-ЯМР спектр (CDCl₃+CD₃OD), δ , м.д.: 1.90 (м, 2H, β -CH₂), 2.27 (дт, 4H, α, γ -CH₂), 2.95 (т, 2H, β -CH₂-TrpA), 3.50 (т, 2H, α -CH₂-TrpA), 7.0 (т, 2H, CH-5,6-Ind), 7.1 (с, 1H, CH-2-Ind), 7,35 (д, 1H, CH-7-Ind), 7.55 (д, 1H, CH-4-Ind).

ПРИМЕР 14

25 ГЛУТАРИЛ-4-(2-АМИНОЭТИЛ) МОРФОЛИН (XIV)

К раствору 0.5 г (4.39 ммоль) глутарового ангидрида в 1 мл DMF при перемешивании и охлаждении водой прибавляют 0.57 мл (4.39 ммоль) 4-(2-аминоэтил) морфолина. Перемешивают 30 мин, оставляют на 20 ч при 20°C. Растворитель удаляют в вакууме. Маслообразный остаток промывают эфиром, растворитель удаляют в вакууме, сушат и оставляют при +4°C на 20 ч. Образующееся кристаллическое вещество промывают и растирают с эфиром (3 x 1.5 мл), а затем с ацетоном (4x1.5 мл), отделяют от растворителей, сушат в вакууме. Получают 0.265 г (24.8 %), R_f 0.41 (6). ВЭЖХ в условиях (11): один пик, время выхода 3.93 мин. ¹H-ЯМР спектр (CD₃OD), δ , м.д.: 0,5 (м, 2H, β -CH₂-GA), 0.9 (м, 4H, α, γ -CH₂-GA),

1.3 (м, 8H, CH₂-2,3,5,6-морфолинил), 2.0 (т, 2H, β-CH₂), 2.38 (т, 2H, α-CH₂).

ПРИМЕР 15

5

ГЛУТАРИЛ-2-(2-АМИНОЭТИЛ)-ПИРИДИН (XV).

К раствору 0.3 г (2.63 ммоль) глутарового ангидрида в 1 мл DMF прибавляют при перемешивании и охлаждении водой 0.315 мл
10 (2.63 ммоль) 2-(2-аминоэтил)пиридина. Перемешивают 1 ч и оставляют на 20 ч при 20°C. Выпавший белый осадок отфильтровывают, многократно промывают эфиром и ацетоном, сушат. Выход 0.29 г (46.7 %). R_f 0.27 (1). ВЭЖХ в условиях (12): один пик, время выхода 14.33 мин. ¹H-ЯМР спектр (CD₃OD), δ, м.д.: 0.41
15 (м, 2H, β-CH₂-GA), 0.81 (м, 4H, α,γ-CH₂-GA), 1.6 (т, 2H, β-CH₂), 2.15 (т, 2H, α-CH₂), 5.9 (м, 2H, CH-4,5-пиридинил), 6.4 (м, 1H, CH-3-пиридинил), 7.05 (м, 1H, CH-6-Py).

ПРИМЕР 16

20

ГЛУТАРИЛФЕНИЛЭТИЛАМИН (XVI)

К раствору 0.5 г (4.39 ммоль) глутарового ангидрида в 1 мл DMF прибавляют при перемешивании и охлаждении водой 0.55 мл
25 (4.39 ммоль) фенилэтиламина. Перемешивают 30 мин, оставляют на 20 ч при 20°C. Растворитель удаляют в вакууме, остаток очищают на колонке 25 x 230 мм с Kieselgel 40 для колоночной хроматографии («Fluka»). Элжируют градиентом хлороформ ÷ хлороформ - MeOH (9:1). Фракции, содержащие целевой
30 продукт с R_f 0.57 (1) объединяют, растворитель удаляют в вакууме, сушат. Выход 1.02 г (99%). ВЭЖХ в условиях (13): один пик, время выхода 15.12 мин. ¹H-ЯМР спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 1.9 (м, 2H, β-CH₂-GA), 2.15 (т, 4H, α,γ-CH₂-GA), 2.8 (т, 4H, α,β-CH₂), 7.2 (м, 5H, C₆H₅).

35

ПРИМЕР 17

ЦИКЛОГЕКСИЛКАРБОНИЛГИСТАМИН (XXIX)

5 К 700 мг (3,85 ммоль) дихлоргидрата гистамина прибавляют 9 мл безводного метанола, нагревают до 50°C и перемешивают до растворения, после чего охлаждают до 0°C. К раствору прибавляют 1,42 мл (7,7 ммоль) 5,4 м раствора метилата натрия в метаноле. Смесь выдерживают 20 мин при 0°C, затем прибавляют равный объем
10 безводного эфира и выдерживают 20 мин при 20°C. Выпавший осадок NaCl отделяют. Растворитель из фильтрата удаляют в вакууме. Маслообразный остаток растворяют в 5 мл ДМФ и охлаждают до +5°C. К раствору при перемешивании прибавляют 0,537 мл (3,85 ммоль) триэтиламина и затем 0,52 мл (3,85 ммоль) хлорангидрида
15 циклогексанкарбоновой кислоты. Реакционную смесь перемешивают в течение 1 часа. Выпавший осадок отделяют. Растворитель из фильтрата удаляют в вакууме. Продукт кристаллизуют из 2 мл ацетона с добавлением триэтиламина. Выпавший осадок отделяют, промывают 2 мл смеси эфира с ацетоном (1:1), 2 мл метанола с
20 ацетоном (1:1) с добавлением триэтиламина. R_f 0.57 (7). Выход 184 мг (52%). ВЭЖХ в условиях (1): один пик, время выхода 18,05 мин. Спектр 1H -ЯМР (CD_3OD), δ , м.д.: 1,36-1,78 (м, 10H, $(CH_2)_5$ -циклогексан), 2,18 (м, 1H, $>CH-CO-$), 2,8 (т, 2H, $\beta-CH_2-NA$), 3,41 (т, 2H, $\alpha-CH_2-NA$), 6,85 (с, 1H, 5-CH-Im), 7,6 (с, 1H, 2-CH-Im).

25

ПРИМЕР 18

ЦИКЛОГЕКСИЛКАРБОНИЛТРИПТАМИН (XXX)

30 К раствору 0,20 (1,25 ммоль) триптамина в 2,5 мл диметилформамида при интенсивном перемешивании прибавляют 0,17 мл (1,25 ммоль) триэтиламина и 0,17 мл (1,25 ммоль) циклогексаноилхлорида. Реакционную смесь перемешивают 1,5 часа в темноте, затем прибавляют 10 мл 5% раствора Na_2CO_3 и
35 перемешивают еще 30 мин. Образовавшуюся эмульсию экстрагируют 2 x 15 мл этилацетата. Этилацетатный экстракт объединяют,

промывают 30 мл воды, сушат над безводным Na_2SO_4 . Растворитель удаляют в вакууме. Маслообразный остаток очищают на колонке с силикагелем Kieselgel 60 с размером частиц 0,035-0,07 мм (фирмы «Fluka») с элюцией градиентом растворителей хлороформ-хлороформ: метанол (9:1). Фракции, содержащие целевой продукт, объединяют, растворитель удаляют в вакууме. Выход 0,068 г (20,3%). R_f 0,63 (1). ВЭЖХ в условиях (15): один пик, время удерживания 32,7 мин. Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3), δ , м.д.: 1,1-1,85 (м, 10H, м, $(\text{CH}_2)_5$ -циклогексан), 2,0 (м, 1H, CH-), 2,97 (т, 2H, β -CH₂-TA), 3,6 (т, 2H, α -CH₂-TA), 7,0 (с, 1H, 2-CH-Ind), 7,1 (т, 1H, 5-CH-Ind), 7,2 (т, 1H, 6-CH-Ind), 7,4 (д, 1H, 4-CH-Ind), 7,6 (д, 1H, 7-CH-Ind).

ПРИМЕР 19

ГЕКСАНОИЛТРИПТАМИН (XXXI)

К раствору 0,20 г (1,25 ммоль) триптамина в 2,5 мл диметилформамида добавляют при интенсивном перемешивании 0,18 мл (1,25 ммоль) триэтиламина и 0,17 мл (1,25 ммоль) гексаноилхлорида. Реакционную массу перемешивают в темноте 1,5 часа, прибавляют 10 мл 5% раствора Na_2CO_3 и перемешивают еще 30 мин. Выпавший белый осадок отделяют и промывают на фильтре 2 x 4 мл водой, 2 x 4 мл соляной кислотой, 3 x 4 мл водой, сушат в вакууме над P_2O_5 . Полученный продукт затем очищают на колонне с силикагелем Kieselgel 60 с размером частиц 0,063-0,2 мм (фирмы «Merck») с элюцией градиентом растворителей хлороформ-хлороформ: метанол (9:1). Фракции, содержащие целевой продукт, объединяют, растворитель удаляют в вакууме. Выход 0,108 г (33,4%). R_f 0,54(1). ВЭЖХ в условиях (15): один пик, время удерживания 33,13 мин. Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3), δ , м.д.: 1,9 (т, 3H, CH₃ -), 1,25 (м, 4H, $(\text{CH}_2)_2$ -гексаноила), 1,6 (м, 2H, β -CH₂-гексаноила), 2,15 (т, 2H, α -CH₂-гексаноила), 3,0 (т, 2H, β -CH₂-TA), 3,6 (т, 2H, α -CH₂-TA), 7,0 (с, 1H, 2-CH-Ind), 7,1 (т, 1H, 5-CH-Ind), 7,2 (т, 1H, 6-CH-Ind), 7,4 (д, 1H, 7-CH-Ind), 7,6 (д, 1H, 4-CH-Ind).

ПРИМЕР 20

МЕТИЛОВЫЙ ЭФИР N-ГЕКСАНОИЛ-L-ТРИПТОФАНА (XXXII)

5 К раствору 0,40 г (1,57 ммоль) $\text{HCl} \cdot \text{H-Trp-OMe}$ в 2,5 мл диметилформамида прибавляют при перемешивании 0,44 мл (3,14 ммоль) триэтиламина и 0,216 мл (1,57 ммоль) гексаноилхлорида. Через 2,5 часа к реакционной массе при охлаждении льдом прибавляют 20 мл 5% раствора Na_2CO_3 и перемешивают 10 мин.

10 Продукт экстрагируют 2 x 25 мл этилацетата. Объединенные этилацетатные экстракты промывают равным объемом воды, сушат под безводным Na_2SO_4 , растворитель удаляют в вакууме. Маслообразный остаток очищают на колонке с силикагелем Kieselgel 60 с размером частиц 0,063-0,2 мм (фирмы «Fluka») с элюцией

15 градиентом растворителей хлороформ-хлороформ: метанол (9,5:0,5) Фракции, содержащие целевой продукт, объединяют, растворитель удаляют в вакууме. Выход 0,138 г (27,7%). R_f 0,79 (1). ВЭЖХ в условиях (16): один пик, время удерживания 6,92 мин. Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3), δ , м.д.: 0,9 (т, 3H, CH_3 -), 1,24 (м, 4H, γ, δ , $-\text{CH}_2$ -

20 гексаноил), 1,57 (м, 2H, β - CH_2 -), 2,13 (т, 2H, α - CH_2 -), 3,31 (д, 2H, β - CH_2 -Trp), 3,7 (с, 3H, CH_3O -), 4,96 (т, 1H, α -CH-Trp), 7,0 (с, 1H, 2-CH-Ind), 7,12 (м, 2H, 5-CH, 6-CH-Ind), 7,33-7,53 (дд, 1H, 4,7-CH-Ind).

25 ПРИМЕР 21

N-[ИМИДАЗОЛИЛ-4-АЦЕТИЛ]-ГЕПТИЛАМИН (XXXIII)

К раствору 0,30 г (1,84 ммоль) хлоргидрата имидазолуксусной

30 кислоты в 2,5 мл ДМФ при перемешивании и охлаждении льдом прибавляют 0,248 г (1,84 ммоль) 1-оксибензотриазола и 0,38 г (1,84 ммоль) дициклогексилкарбодиимида. Реакционную смесь перемешивают при охлаждении 10 мин. Затем прибавляют 0,275 мл (1,84 ммоль) гептиламина. Реакционную смесь перемешивают 1 час и оставляют на

35 20 часов при $+4^\circ\text{C}$. Осадок дициклогексилмочевины отделяют, растворитель из фильтрата удаляют в вакууме. Фракции, содержащие целевой продукт, объединяют, растворитель удаляют в вакууме.

Выход 0,12 г (29%). R_f 0,39 (2). ВЭЖХ в условиях (15): время удерживания индивидуального вещества 28,01. Спектр 1H -ЯМР($CDCl_3$), δ , м.д.: 0,9 (т, 3H, CH_3 -), 1,3 (м, 10H, $-(CH_2)_5$ -), 1,8 (т, 2H, α - CH_2 -), 3,0 (с, 2H, $-CH_2$ -), 7,6 (с, 1H, 5- CH -Im), 8,2 (с, 1H, 2- CH -Im). Масс-спектр: $[M+1H]^+$, m/z : 224.

ПРИМЕР 22

22.1 БЕНЗИЛОВЫЙ ЭФИР N $^{\alpha}$ -ТРЕТ.-БУТИЛОКСИКАРБОНИЛ- β -АЛАНИНА

10

Раствор 0,8 г (5,29 ммоль) Вос- β -Ala в 4 мл этанола прибавляют к раствору 1,38 г (5,29 ммоль) карбоната цезия в воде. Растворитель удаляют в вакууме. Маслообразный остаток сушат в вакууме до образования 1,45 г стеклообразного остатка цезиевой соли Вос- β -Ala, которую затем растворяют в 10 мл ДМФ. К раствору при перемешивании и охлаждении прибавляют порциями 0,538 мл (4,53 ммоль) бромистого бензила и перемешивают 1,5 часа. Осадок бромистого цезия отделяют, растворитель из фильтрата удаляют в вакууме. Маслообразный остаток очищают колоночной хроматографией на силикагеле с элюцией хлороформом. Получают 0,70 г (55,0%) бензилового эфира Вос- β -аланина. R_f 0,27(9).

15

20

25

22.2. N-БЕНЗИЛОКСИКАРБОНИЛ-[L-ГИСТИДИЛ]- β -АЛАНИНА БЕНЗИЛОВЫЙ ЭФИР

30

35

К 0,60 г (2,15 ммоль) Вос- β -Ala-OBzl прибавляют 3,5 мл 4N раствора HCl в диоксане, оставляют на 40 минут. Затем прибавляют 3x5 мл безводного эфира, растворитель удаляют в вакууме. Маслообразный остаток растворяют в 3,5 мл ДМФ, прибавляют триэтиламин до pH 8. При охлаждении льдом и перемешивании прибавляют 0,622 г (2,15 ммоль) Z-L-His и 1,63 г (2,15 ммоль) «комплекса F». Реакционную смесь перемешивают при 0 $^{\circ}$ C 1 час и оставляют на 20 часов при +4 $^{\circ}$ C. Осадок дициклогексилмочевины отделяют, растворитель из фильтрата удаляют в вакууме. Маслообразный остаток растворяют в ацетоне и добавляют

триэтиламин до pH 9. Растворитель удаляют в вакууме, остаток очищают на колонке с силикагелем 40/60 в градиенте растворителей хлороформ-хлороформ: метанол (9,5:0,5). Получают 0,170 г белого твердого вещества. R_f 0,44 (1).

5

22.3 N-[L-ГИСТИДИЛ]- β -АЛАНИН (XXXVI)

К раствору 0,14 г Z-L-His- β -Ala-OBzl в 3 мл метанола прибавляют 0,1 г 10% палладия на угле и перемешивают 1,5 часа, периодически пропуская ток водорода. Катализатор отделяют, растворитель удаляют в вакууме, остаток сушат. Выход 0,085 г (98%). R_f 0,69 (10). ВЭЖХ в условиях (15): время удерживания индивидуального вещества 3,55 мин.

15 ПРИМЕР 23

23.1 N $^{\alpha}$ -ТРЕТ.-БУТИЛОКСИКАРБОНИЛ- β -БЕНЗИЛОВЫЙ ЭФИР- α -АСПАРТИЛГИСТАМИНА

К раствору в 5 мл DMF при перемешивании прибавляют 1,7 г (3,48 ммоль) Вос Asp(pBzl)Opfp. Перемешивают 1,5 ч и оставляют на 20 ч при +4°C. Растворитель удаляют в вакууме. Маслообразный остаток растворяют в 2 мл хлороформа, прибавляют триэтиламин до pH 8 и очищают на колонке 30 x 1,5 см с силикагелем 40/100 в градиенте растворителей хлороформ-хлороформ: метанол (9:1). Фракции, содержащие целевой продукт, объединяют, упаривают. Получают безцветное вещество. Выход 800 мг (55%), R_f 0,29 (1).

23.2 N $^{\alpha}$ -ТРЕТ.-БУТИЛОКСИКАРБОНИЛ- α -АСПАРТИЛГИСТАМИН

30

85 мг Вос-Asp(OBzl)HA растворяют в 2 мл метанола, прибавляют 80 мг Pd/C и перемешивают в течении 1,5 ч, периодически пропуская ток водорода. Катализатор отфильтровывают, фильтрат упаривают. Получают 65 мг (95%) прозрачного масла. R_f 0,35 (3).

23.3 α -L-АСПАРТИЛГИСТАМИН (XXXVIII)

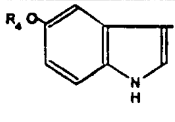
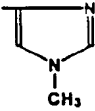

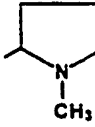
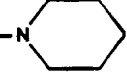
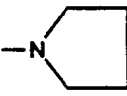
Раствор 65 мг Вос-Asp-НА в 2 мл 4N HCl в диоксане выдерживают 40 мин. Растворитель удаляют в вакууме, остаток промывают сухим эфиром, растворитель удаляют в вакууме. Выход 50 мг (83%) 2HCl·Asp-НА. R_f 0,57 (10). Спектр ^1H -ЯМР ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$), δ , м.д.: 2,0 (д, 2H, β -CH₂-Asp), 2,9 (т, 2H, β -CH₂-НА), 3,5 (т, 2H, α -CH₂-НА), 4,2 (т, 1H, α -CH-Asp), 7,0 (с, 1H, 5-CH-Im), 8,15 (1H, с, 2-CH-Im). Масс-спектр, m/z : $[\text{M}+1\text{H}]^+ 227,2$.

По аналогичным типовым методикам получают также новые соединения общей формулы (I), приведенные в таблице 2.

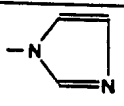
Таблица 2

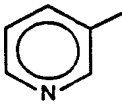
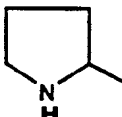
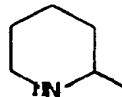
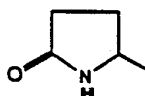
Строение и характеристики соединений общей формулы (I)

№	R ₁	n	R ₂	m	R ₃	Физико-химические характеристики
V	$\begin{array}{c} \text{HOOC-CH}_2\text{CH-} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	1	H	1	-4-Im	^1H -ЯМР спектр: 1.5 (д, 3H, CH ₃), 1.75 (м, 1H, β -CH), 2.2 (м, 4H, α,γ -CH ₂), 2.8 (т, 2H, β -CH ₂ -НА), 3.4 (т, 2H, α -CH ₂ -НА), 7.3 (с, 1H, CH-5-Im), 8.6 (с, 1H, CH-2-Im). Масс-спектр, m/z : $[\text{M}+1\text{H}]^+ 240.2$.
VIII	$\begin{array}{c} \text{HOOC-CH-} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2	CH ₃ OOC	1	-3-Ind	^1H -ЯМР спектр: 2.12 (м, 2H, β -CH ₂), 2.43 (т, 2H, γ -CH ₂), 3.12 (т, 2H, β -CH ₂ -Трп), 3.7 (с, 3H, CH ₃ O), : 3.85 (т, 1H, α -CH), 3.92 (т, 1H, α -CH-Трп), 6.99 (т, 1H, 5-CH-Ind), 7.05 (с, 1H, 2-CH-Ind), 7.06 (т, 1H, 6-CH-Ind), 7.55 (д, 2H, 4,7-CH-Ind). Масс-спектр, m/z : $[\text{M}+1\text{H}]^+ 348.3$.
XIII	NH ₂ -	2	H	1	-3-Ind	^1H -ЯМР спектр, м.д.: 2.35 (дт, 4H, α,β -CH ₂), 3.05 (т, 2H, β -CH ₂ -ТрпА), 3.63 (т, 2H, α -CH ₂ -ТрпА), 7.07 (м, 3H, CH-2,5,6-Ind), 7.43 (д, 1H, CH-7-Ind), 7.65 (д, 1H, CH-4-Ind). Масс-спектр, m/z : $[\text{M}+1\text{H}]^+ 232.5$.

	XVIII	HOOC-	3	H	1		¹ H-ЯМР спектр: 1.98 (м, 2H, β-CH ₂ -GA), 2.25 (с, 3H, CH ₃ CO), 2.45 (м, 4H, α,γ-CH ₂ -GA), 3.13 (т, 2H, β-CH ₂), 3.60 (т, 2H, α-CH ₂), 6.91 (дд, 1H, CH-6-Ind), 7.15 (д, 2H, CH-2,4-Ind), 7.36 (д, 1H, CH-7-Ind). Масс-спектр, m/z: [M+1H] ⁺ 333.3.
5						где R ₄ =CH ₃ CO-	
10	XXII	HOOC-	2	H	1		ВЭЖХ в условиях (6): один пик, время выхода 8.9 мин. Масс-спектр, m/z: [M+1H] ⁺ 226.2.
15	XXIII	HOOC-	3	CH ₃ OOC-	1		Масс-спектр, m/z: [M] ⁺ 299.2 Вычислено %: S 10.69. Найдено %: 10.85.
20	XXIV	HOOC-	3	H	1		¹ H-ЯМР спектр: 0.62 (м, 2H, β-CH ₂ -GA), 0.95 (м, 4H, α,γ-CH ₂ -GA), 1.15 (м, 4H, CH ₂ -3,4-пирролидинил), 2.5 (с, 3H, CH ₃ -), 2.74 (т, 2H, β-CH ₂), 3.05 (т, 2H, α-CH ₂), 3.21 (т, 2H, CH ₂ -5-пирролидинил), 3.34 (м, 1H, CH-2-пирролидинил). Масс-спектр, m/z: [M] ⁺ 242.3
25	XXV	HOOC-	3	H	1		¹ H-ЯМР спектр: 0.5-0.65 (м, 8H, β-CH ₂ -GA; CH ₂ -3,4,5-пиперазинил), 0.9 (м, 4H, α,γ-CH ₂ -GA), 1.25 (м, 4H, CH ₂ -2,6-пиперазинил), 2.1 (т, 2H, β-CH ₂), 2.42 (т, 2H, α-CH ₂). Масс-спектр, m/z: [M] ⁺ 242.3
30							
35	XXVI	HOOC-	3	H	1		¹ H-ЯМР спектр: 0.6 (м, 2H, β-CH ₂ -GA) 0.8-0.9 (м, 4H, CH ₂ -3,4-Pirr), 1.05 (м, 4H, α,γ-CH ₂ -GA), 1.35 (м, 4H, CH ₂ -2,6-пирролидинил), 2.05 (т, 2H, β-CH ₂), 2.4 (т, 2H, α-CH ₂). Масс-спектр, m/z: [M] ⁺ 228.2

57

	XXVII	HOOC-	2	H	2		ВЭЖХ в условиях (7): один пик, время выхода 13.8 мин. Масс-спектр, m/z: [M+1H] ⁺ 240.2.
5	XXVIII	C ₂ H ₅ OCO-	1	H	1	-4-Im	¹ H-ЯМР спектр: 1.77 (м, 2H, β-CH ₂), 2.22 (м, 4H, α,γ-CH ₂), 2.9 (т, 2H, β-CH ₂ -HA), 3.49 (т, 2H, α-CH ₂ -HA), 3.6 (дд, 2H, -CH ₂ -O-CO), 3.75 (т, 3H, CH ₃ -CH ₂ -), 7.26 (с, 1H, CH-5-Im), 8.6 (с, 1H, CH-2-Im). Масс-спектр, m/z: [M+1H] ⁺ 226.2.
10							
15	XXXVII	CH ₃ -CONH-	3	H	1	-4-Im	¹ H-ЯМР спектр: 1.91 (м, 2H, β-CH ₂), 2.18 (с, 3H, CH ₃ CO), 2.36 (т, 2H, γ-CH ₂), 2.97 (т, 2H, β-CH ₂ -HA), 3.32 (т, 2H, α-CH ₂ -HA), 3.53 (т, 2H, α-CH ₂), 7.32 (с, 1H, CH-5-Im), 8.66 (с, 1H, CH-2-Im). Масс-спектр, m/z: [M+1H] ⁺ 239.1.
20							
25	XXXVIII	$\begin{array}{c} \text{NH}_2\text{-CH-} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$	1	H	1	-4-Im	¹ H-ЯМР спектр: 1.8(д, 2H, β-CH ₂ -Asp), 2.72(т, 2H, β-CH ₂ -HA), 3.31 (т, 2H, α-CH ₂ -HA), 4.05(т, 1H, α-CH-Asp), 6.9 (с, 1H, 5-CH-Im), 7.95 (1H, с, 2-CH-Im). Масс-спектр, m/z: [M+1H] ⁺ 227.2.
30							
	XXXIV	-3-Ind	1	H	2	-(NH ₂)CH-COOH	¹ H-ЯМР спектр: 1.85 (м, 4H, β,γ-CH ₂), 2.1 (т, 2H, δ-CH ₂), 3.1 (с, 2H, -CH ₂ -), 3.45 (т, 2H, α-CH), 6.95 (с, 1H, CH-2-Ind), 7.0-7.05 (м, 2H, CH-5,6-Ind), 7.4-7.45 (дд, 2H, CH-4,7-Ind). Масс-спектр, m/z: [M+1H] ⁺ 290.2.
35							
	XXXV	-3-Ind	2	H	2	-NH ₂	¹ H-ЯМР спектр: 1.7 (м, 2H, β-CH ₂), 2.1 (т, 2H, γ-CH ₂), 2.9 (т, 2H, β-CH ₂ -индолил-пропион.), 3.05 (т, 2H, α-

5						CH ₂), 3.5 (м, 2H, α-CH ₂ - индолил-пропион.), 7,0 (с, 1H, CH-2-Ind), 7.05 (м, 1H, CH-5-Ind), 7.1 (м, 1H, CH-6-Ind), 7.32 (д, 1H, CH-7-Ind), 7.5 (д,	
						1H, CH-4-Ind).Масс-спектр, m/z: [M] ⁺ 245.2.	
10	XL ⁶		0	H	1	-4-Im	¹ H-ЯМР спектр: 2.4 (т, 2H, β-CH ₂ -HA), 3,3 (т, 2H, α-CH ₂ -HA), 7.1-7.15 (м, 4H, 2,4,5,6-CH), 7.3 (с, 1H, CH-5-Im), 8.65 (с, 1H, CH-2-Im). Масс-спектр, m/z: [M+1H] ⁺ 217.1.
15	XL ^I		0	H	1	-3-Ind	¹ H-ЯМР спектр: 2.01 (м, 2H, 4-CH ₂ -), 2.3 (м, 2H, 3-CH ₂ -), 2.42 (т, 2H, β-CH ₂ -ТрА), 3.4 (т, 2H, 5-CH ₂ -), 3.46 (т, 2H, α-CH ₂ -ТрА), 4.1 (м, 1H, 2-CH), 6.95 (м, 3H, 2,5,6-CH-Ind), 7.6 (дд, 2H, 4,7-CH-Ind). Масс-спектр, m/z: [M] ⁺ 257.2.
20							
25	XL ^{II}		0	H	1	-4-Im	¹ H-ЯМР спектр: 2.1-2.25 (м, 6H, 3,4,5-CH ₂ -), 2.4 (т, 2H, β-CH ₂ -HA), 3.45 (т, 2H, 6-CH ₂ -), 3.48 (т, 2H, α-CH ₂ -HA), 4.15 (т, 1H, 2-CH-), 7.2 (с, 1H, CH-5-Im), 8.5 (с, 1H, CH-2-Im). Масс-спектр, m/z: [M+1H] ⁺ 223.2.
30	XL ^{III}		0	H	1	-3-Ind	¹ H-ЯМР спектр: 2.1 (м, 2H, β-CH ₂ -), 2.5 (т, 2H, β-CH ₂ -ТрА), 2.93 (т, 2H, γ-CH ₂ -), 3.45 (т, 2H, α-CH ₂ -ТрА), 4.25 (т, 1H, α-CH), 7.03 (м, 1H, CH-5-Ind), 7.09 (с, 1H, CH-2-Ind), 7.1 (м, 1H, CH-6-Ind), 7.6 (д, 1H, CH-7-Ind), 7.65 (д, 1H, CH-4-Ind). Масс-спектр, m/z: [M] ⁺ 271.2.
35							

Далее представлены примеры испытаний биологической активности соединений формулы (I).

Результаты всех экспериментов обрабатывались статистически [Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавание патологических процессов. - М.- Наука.- 1978.- 365 с.].

ПРИМЕР 24

ИЗУЧЕНИЕ АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I)

10

Для изучения антигипоксической активности соединений общей формулы (I) были использованы тесты определения средней продолжительности жизни животных в замкнутом объеме и на модели острой гипобарической гипоксии при минимальном разрежении атмосферы (170-185 мм рт. ст.).

15

А. Определение средней продолжительности жизни мышей в замкнутом объеме

Мышей сажают по одной в стеклянные банки, которые закрывают герметично и регистрируют продолжительность жизни.

20

В эксперименте используют 90 беспородных мышей-самцов с исходной массой 20 ± 0.5 г, содержащихся по 10 особей в клетке на стандартном рационе вивария. Предварительно была определена средняя продолжительность жизни мышей в замкнутых сосудах объемом 250 мл, которая составляла 22-25 минут. Во всех группах используют по 10 животных.

25

Схема эксперимента:

- а) - предварительная гипоксия в течение 12 минут;
- б) - первое введение соединения сразу после предварительной гипоксии;
- в) - второе введение соединения через 24 часа после первого, затем ежедневно в течение трех дней;
- г) - регистрация времени жизни животных в условиях гипоксии в герметичном пространстве через 2 часа после последнего введения соединения.

30

35

Исследуемые соединения растворяли в дистиллированной воде и вводили животным перорально в течение 5 дней.

Экспериментальные группы:

1 группа - контрольная - без предварительной гипоксии с пероральным введением в течение 5 дней дистиллированной воды;

2 и 3 группы - введение соединения XLIV с использованием двух доз - 50 и 500 мкг/кг, соответственно;

4 группа - введение оксибутирата натрия перорально в дозе 300 мкг/кг за 2 часа до гипоксии;

5 группа - контрольная - с предварительной гипоксией в течение 12 минут с последующим введением в течение 5 дней дистиллированной воды;

6 и 7 группы - введение соединения XLIV с использованием двух доз - 50 и 500 мкг/кг, соответственно;

8 и 9 группы - введение соединения III с использованием двух доз - 50 и 500 мкг/кг, соответственно.

Данные, представленные в таблице 3, свидетельствуют о том, что соединения общей формулы (I) обладают выраженной антигипоксической активностью, достоверно увеличивая продолжительность жизни экспериментальных животных на 20-50 процентов. Следует отметить, что исследованные соединения повышали продолжительность жизни мышей сопоставимо с действием препарата сравнения - оксибутирата натрия, при использовании их в дозах на три-четыре порядка ниже.

Таблица 3

Влияние исследуемых соединений на продолжительность жизни мышей в условиях гипоксии

Группы животных	Доза препарата (мг/кг)	Время жизни (секунды)
1 группа - контроль, без предварительной гипоксии	-	1440,3±86,2
2 группа - соединение XLIV	0,05	2110,6±123,6** ¹
3 группа - соединение XLIV	0,50	1742,8±68,1* ¹
4 группа - оксибутират натрия	300	2103,9±100,5** ¹
5 группа - контроль, с	-	1437,2±87,3

гипоксией		
6 группа - соединение XLIV	0,05	1415,5±47,2
7 группа - соединение XLIV	0,50	1844,8±93,2* ⁵
8 группа - соединение III	0,05	1670,6±25,3* ⁵
9 группа - соединение III	0,50	1532,6±96,0

* - достоверность различий по отношению к соответствующей контрольной группе (цифры 1 и 5); * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

5 Б. Модель острой гипобарической гипоксии (ОГБГ)

Моделирование ОГБГ осуществлялось в проточной камере при температуре 22°C. Эксперименты выполнялись на беспородных мышах с исходной массой 20 г при разрежении воздуха 170-185 мм рт.ст., что соответствует высоте 10500-11000 м. Скорость подъема - 35 м/сек. В каждой группе было по 15 животных. Соединения вводили перорально, подъем на высоту осуществлялся через 2 часа после последнего введения.

Группы животных:

- 15 1 группа - контроль интактный - введение физиологического раствора четырехкратно.
- 2 и 3 группы - введение соединения III в дозе 50 и 500 мкг/кг в течение 4-х дней.
- 4 группа - введение оксибутират натрия в дозе 300 мг/кг
- 20 однократно.

Результаты обрабатывались статистически.

Результаты, представленные в таблице 4, свидетельствуют, что введение соединения в дозе 500 мкг/кг повышает время жизни животных в условиях гипоксии.

Таблица 4

Влияние соединений на продолжительность жизни мышей
в условиях гипоксии

5

Группы животных	Доза мкг/кг	Время жизни в условиях гипоксии (минуты)	Эффект, %
1. контроль	-	306,0 ± 9,8	100±3,2
2 группа	50	322,0 ± 10,9	105±3.5
3 группа	500	345,3 ± 15,9	113±5,2*
4 группа	300000	364,3 ±13,5	119±4,4*

*- достоверность различий по отношению к контрольной группе;

* - $p < 0,05$.

10

ПРИМЕР 25

ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЙ

15 Противоишемическую активность соединения оценивали по интегральному тесту – влиянию на размер зоны некроза после воспроизведения инфаркта миокарда у беспородных крыс массой 250–300 г.

Влияние соединения на размер зоны некроза исследовали через
20 4 часа после окклюзии артерии у крыс при помощи дифференциального индикаторного метода [Сернов Л.Н., Гацура В.В./Дифференциальный индикаторный метод определения зоны ишемии и некроза при экспериментальном инфаркте миокарда у крыс.//Бюлл. exper. биол и мед.-1989.-№5.-с.534-535]. Все манипуляции,
25 причиняющие боль животным, проводили с использованием этаминалового наркоза (этаминал – 40 мг/кг, внутривенно). Эксперимент проводили через 15 часов после последнего введения соединения. В каждой группе было 8 животных.

Группы животных:

1 группа – контроль интактный – введение физиологического раствора четырехкратно перорально.

2 и 3 группы – введение соединения III в дозе 50 и 500 мкг/кг в течение 4-х дней перорально, соответственно.

4 группа – введение Никорандила в дозе 1 мг/кг однократно сразу после окклюзии, внутрибрюшинно.

Данные, представленные в таблице 5, свидетельствуют, что соединения обладают противоишемической активностью.

Таблица 5

Влияние соединения на размер зоны некроза через 4 часа после окклюзии коронарной артерии у крыс

Группы животных	Доза, мкг/кг	Зона ишемии, % к общей массе миокарда	Зона некроза, % к общей массе миокарда	Зона некроза в % к зоне миокарда
1 группа	-	25,5±1,7	17,1±1,2	67,6±4,0
2 группа	50	27,2±2,8	15,4±1,7	56,8±2,7*
3 группа	500	31,1±3,1	17,8±1,0	54,3±2,1*
4 группа	1000	25,0±1,9	11,3±1,6	44,3±5,0*

* – достоверность различий по отношению к контрольной группе;

* – $p < 0,05$.

ПРИМЕР 26

ИЗМЕНЕНИЕ ТЯЖЕСТИ ПИЩЕВОЙ АНАФИЛАКСИИ ПОД ВЛИЯНИЕМ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I)

Исследования проводили на беспородных морских свинках-самцах с исходной массой 250-300 г, содержащихся на общевиварном рационе. Сенсибилизацию животных проводили по

методу [Шатерников В.А., Марокко И.Н., Пятницкий Н.Н., Ширина Л.И., Горгошидзе Л.Ш., Касьяненко В.В., Сугоняева Н.П., Жминченко В.М., Внокурова Н.М. / Экспериментальное воспроизведение пищевой анафилаксии.// Вопр. питания.- 1982.- № 2.- с. 27-31] куриным овалбумином (ОВА), однократно перекристаллизированным, производства Олайненского НПО «БИОХИМРЕАКТИВ», в дозе 50 мг на животное в сутки в течение 3 дней. Через 14 дней после окончания сенсibilизации у животных вызывали активный анафилактический шок (ААШ) внутривенным введением разрешающей дозы гомологичного белка в дозе 5 мг в 0,5 мл физиологического раствора. Тяжесть ААШ оценивали по уровню летальности, количеству судорожных проявлений и по величине анафилактического индекса [Weigle W., Cochrane C., Dixon F. / Anaphylactogenic properties of soluble antigen-antibody complexes in the guinea pigs and rabbits.// J. Immunology.- 1960.- vol. 85.- pp. 469-477].

Соединения III и XLV и Кларитин (группа 2, 3 - 30 морских свинок и группа 4 - 24 животных, соответственно) вводили животным перорально в течение 3-х дней перед разрешением в дозе: соединения - 50 мкг/кг и Кларитин - 1000 мкг/кг соответственно. Животные контрольной группы получали в соответствующие сроки физиологический раствор (группа 1 - 30 морских свинок).

Определение достоверности различий между группами проводили с использованием метода углового преобразования Фишера [Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавание патологических процессов.- М.- Наука.- 1978.- 365 с.].

В таблице 6 показано достоверное снижение тяжести проявлений анафилактического шока у морских свинок, получавших соединения как по сравнению с контрольной группой, так с группой животных, получавших Кларитин.

Таблица 6

Изменение тяжести пищевой анафилаксии у морских свинок
под влиянием одного из соединений общей формулы (I)

5

Тяжесть пищевой анафилаксии Группы животных	Летальность %	Судороги %	Анафилактический индекс
Сенсибилизация ОВА	20,0	40,0	2,13
Сенсибилизация ОВА+ соедин-е III	6,7**	13,3*	0,83*
Сенсиб-ция ОВА + соедин-е XLV	6,7**	15,5*	0,90*
Сенсиб-ция ОВА + Кларитин	25,0	53,3	2,03

* - достоверность различий по отношению к группам 1 и 3.

** - $p < 0,01$

10 ПРИМЕР 27

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I) НА ВЫРАЖЕННОСТЬ БРОНХОСПАЗМА

15 Антиастматическое действие исследуемых соединений изучали
на модели антиген-индуцированного бронхоспазма у активно
сенсибилизированных морских свинок по методу Andersson
[Andersson P. /Antigen induced bronchial anaphylaxis in actively
sensitized guinea pig.// Allergy. - 1980. - vol. 35. - pp. 65-
20 71].

Морских свинок-самцов сенсибилизировали внутримышечной
инъекцией 0,5 мл суспензии, содержащей 20 мкг овальбумина (ОВА,
производства фирмы Sigma /grade 111/) и 100 мг $Al(OH)_3$ на
животное. Разрешающую дозу 150-200 мкг/кг ОВА вводили

внутривенно (v. jugularis) в 0,1 мл физиологического раствора на 26 день после сенсибилизации. Индукция бронхоспазма и измерение параметров внешнего дыхания проводили по методу, описанному в работе [Yu-Hong L., Barnes P., Rogers D. / Inhibition of
5 neurogenic plasma exudation and bronchoconstriction by a K⁺ channel activator, BRL 38227, in guinea pig airways in vivo.// Europ. J. Pharmacol.- vol. 239.- pp. 257-259]. Измерение параметров дыхания осуществляли с помощью трансдуцера (Ugo Basel, модель 7020), соединенного с канюлей и самописца
10 (Миллихром), регистрирующего амплитуду дыхания. Динамику бронхоспазма наблюдали в течение 30-60 минут. Эффективность соединений определяли по изменению величины бронхоспазма.

Исследовали ряд соединений общей формулы (I) - III, IV, . VI, VII, X, XXXI, XLIV, XLVI, XLVIII, XLIX, которые растворяли в
15 физиологическом растворе и вводили животным трехкратно внутрижелудочно за 72, 48 и 18 часов до индукции бронхоспазма в дозе 50 мкг/кг и интратрахеально - соединение III в той же дозе за 15 минут до индукции бронхоспазма. В качестве препарата сравнения использовали Интал, который вводили животным в дозе 5
20 мг/кг по той же схеме, что и исследуемые вещества. Контрольная группа животных получала эквивалентное количество физиологического раствора.

Более детально исследовали соединения III и XLIV

Группы животных: 1 группа - контроль; 2 группа - животные,
25 получавшие Интал; 3 группа - животные, получавшие соединение XLIV перорально; 4 группа - животные, получавшие соединение III перорально; 5 группа - животные, получавшие соединение III интратрахеально, 6 группа - животные, получавшие соединение XLIX, 7 группа - животные, получавшие соединение XXXI, 8 группа
30 - животные, получавшие соединение XLVI, 9 группа - животные, получавшие соединение VI, 10 группа - животные, получавшие соединение XLVIII.

Все тестируемые соединения снижали величину бронхоспазма на 20-70%, по сравнению с контрольными значениями. Интал
35 уменьшал величину бронхоспазма почти на 50%.

В таблице 7 представлены результаты, свидетельствующие о

том, что соединения общей формулы (I) снижают величину бронхоспазма более чем на 50%, по сравнению с контрольными значениями.

5

Таблица 7

Изменение величины бронхоспазма под влиянием
исследуемых соединений

Группы животных	Количество животных в группе	Бронхоспаз (% от максимального)
1 группа - контроль	21	87,5±10,7
2 группа - Интал, 5 мг/кг	14	40,7±3,4*
3 группа - соединение XLIV, 50 мкг/кг, per os	12	15,6±3,2**
4 группа - соединение III, 50 мкг/кг, per os	12	12,0±4,0**
5 группа - соединение III, 50 мкг/кг, в/трах.	12	24,6±6,4*
6 группа - соединение XLIX, 50 мкг/кг, per os	15	33,0±9,4*
7 группа - соединение XXXI, 50 мкг/кг, per os	12	39,3±7,6*
8 группа - соединение XLVI, 50 мкг/кг, per os	12	35,0±8,2*
9 группа - соединение VI, 50 мкг/кг, per os	12	35,0±10,2*
10 группа - соединение XLVIII, 50 мкг/кг, per os	12	22,0±3,4*

10

- * - достоверность различий по отношению к контрольной группе,
* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$

Таким образом, исследованные соединения снижали величину
5 бронхоспазма аналогично препарату сравнения - Интал. Эффект
проявлялся как при пероральном, так и интратрахеальном способе
введения соединений. Однако действующая доза исследованных
веществ была на два порядка ниже, чем Интала.

10 ПРИМЕР 28

ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ РЕАКЦИИ ПАССИВНОЙ КОЖНОЙ АНАФИЛАКСИИ ПОД ВЛИЯНИЕМ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I)

15 Эксперименты проводили на нелинейных мышцах-самцах с
исходной массой 22-24 г. Каждая группа содержала по 10 животных.
Сенсибилизацию животных осуществляли внутрикожным введением 20-
30 мкл сыворотки мышей, полученной от предварительно
иммунизированных животных, содержащей реактиновые антитела
20 против куриного овальбумина (ОВА). Исследуемые соединения III и
XLIV вводили животным перорально в течение 3-х дней, начиная со
дня сенсибилизации кожи в дозах 50, 150 и 500 мкг/кг, соединения
XLIV - в дозе 50 мкг/кг. Аналогично вводили препараты сравнения
- Супрастин в дозе 10 мг/кг и Кларитин в дозе 2 мг/кг. Через 48
25 часов после сенсибилизации мышам внутривенно вводили разрешающую
дозу ОВА (1 мг) и 1 мг синьки Эванса в 0,2 мл физиологического
раствора. Интенсивность реакции пассивной кожной анафилаксии
(ПКА) определяли через 30 минут по величине (площади) синего
пятна на внутренней поверхности кожи в месте введения реактиновых
30 антител. Величину пятна измеряли в двух взаимно перпендикулярных
направлениях и результат выражали в мм².

Результаты представленные в таблице 8 свидетельствуют, что
введение исследуемого соединения III в дозе 50 мкг/кг мышам
достоверно снижает выраженность реакции ПКА на 42%, а в дозах
35 150 и 500 мкг/кг на 34,3% и 30,0% соответственно. При введении
соединения XLIV уменьшается выраженность реакции ПКА на 50%.

Введение Супрастина экспериментальным животным не изменяло проявлений ПКА. При применении Кларитина наблюдалось выраженное снижение реакции ПКА.

Таблица 8

5 Влияние исследуемых соединений на реакцию
пассивной кожной анафилаксии

Группы животных	Интенсивность реакции, мм ²	Процент подавления реакции
контроль - 1	81,7±14,5	-
Соединение III - 150 мкг/кг	53,7±10,1* ¹	34,3
Соединение III - 500 мкг/кг	57,2±12,6* ¹	30,0
контроль - 2	88,9±34,6	-
Соединение III - 50 мкг/кг	51,6±17,1* ²	42
Соединение XLIV - 50 мкг/кг	44,6±11,6	50
Супрастин - 10 мг/кг	82,1±18,1	7,6
Кларитин - 2 мг/кг	6,4±2,3** ²	92,8

* - достоверность различий по отношению к контрольным группам 2 и
10 2, соответственно; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

Таким образом, исследуемое соединение обладает способностью
снижать проявления ПКА в большей степени, чем Супрастин.
Выраженность реакции ПКА при введении животным Кларитина была
15 подавлена в большей степени, чем при введении исследуемого
соединения, однако его действующая доза была на порядок выше,
чем у изучаемого соединения.

ПРИМЕР 29

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I) НА АЛЛЕРГИЧЕСКУЮ
РЕАКЦИЮ ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПА

5

А. Влияние соединения на развитие реакции гиперчувствительности
замедленного типа, индуцированную эритроцитами барана

Исследования проводили на нелинейных белых мышах-самцах с
10 исходной массой 22-24 г. Каждая группа включала по 10 животных.
Мышей сенсibilизировали внутривенной инъекцией взвеси 2×10^5
эритроцитов барана в 0,05 мл физиологического раствора. На 5
сутки в подушечку задней лапы вводили взвесь 10^8 эритроцитов
барана в 0,05 мл физиологического раствора. В качестве контроля
15 вводили растворитель - физиологический раствор в эквивалентном
количестве. Интенсивность реакции оценивали через 24 часа по
разности масс лапок животных.

20

$$\text{Индекс реакции} = \frac{M_o - M_k}{M_k} \times 100$$

25

Исследуемое соединение III вводили перорально в течение
трех дней в дозах 50 и 500 мкг/кг по схеме - 3, 4 и 5 дни, 5-й
день - введение разрешающей дозы.

Как видно из данных, представленных в таблице 9, введение
животным соединения в дозах 50 и 500 мкг/кг достоверно снижает
интенсивность реакции гиперчувствительности замедленного типа.

30

Таблица 9

Влияние соединения III на проявление аллергической реакции
замедленного типа, индуцированную эритроцитами барана

Группы животных	Разность масс лапок, (г)	Индекс реакции, %	Процент к контролю
Контроль	22,4±3,7	13,7±1,25	100

50 мкг/кг	16,7±1,9*	10,3±1,1*	75,5
500 мкг/кг	17,2±1,3*	10,8±0,8*	79,3

* - достоверность различий по отношению к контрольной группе.

* - $p < 0,05$

- 5 Б. Исследование местного влияния соединений общей формулы (I) на реакцию гиперчувствительности замедленного типа, индуцированную пикрилхлоридом, у мышей.

Исследование влияния соединений на гиперчувствительность замедленного типа у мышей, вызванную 2,4,6-трихлорбензолом (ТХБ), проводили по методу Tarayre et al. [Tarayre J.P., Barbara M., Aliaga M., Tisne-Versailles /Comparative actions of immunosuppressants, glucocorticoids and non-steroidal anti-inflammatory drugs on various models of delayed hypersensitivity and on a non-immune inflammation in mice.// Arzneim.-Forsch. Drug Res.-1990.- vol.40.- p.1125-1131].

Исследования проводили на беспородных мышках-самцах с исходной массой 30-35 г. Каждая группа включала по 10 животных. Мышей сенсibilizировали нанесением на выбритый участок живота 0,1 мл 3% раствора ТХБ в ацетоне. Через 7 суток разрешающую дозу ТХБ (0,025 мл 3% раствора) наносили на обе поверхности правого уха. Через 30 минут втирали в эти же поверхности исследуемую мазь в объеме 0,05 мл. Через 24 часа после индукции отека мышей забивали, уши отрезали и взвешивали. Интенсивность аллергической реакции оценивали по изменению веса в граммах правого уха (опытного) по отношению левому (контрольному).

Торможение аллергической реакции, выраженное в процентах, рассчитывали по формуле:

$$100 - \left[\frac{\Pi - \text{Л(опыт)}}{\text{Л}} : \frac{\Pi - \text{Л(контроль)}}{\text{Л}} \times 100 \right] (\%),$$

где Π - вес правого уха, Л - вес левого уха.

Контроль - интактные животные, опыт - животные получавшие соединения.

Исследуемые соединения наносили на ухо в виде 1% и 5% мази, основу которой составляли 10% раствор метилцеллюлозы и пропиленгликоль в соотношении 1:1.

Группы животных:

1 группа - контроль, животным на ухо наносили основу мази без действующего начала.

2 группа - животным на ухо наносили основу мазь, содержащую 1% соединения III.

3 группа - животным на ухо наносили основу мазь, содержащую 1% соединения XVII.

4 группа - животным на ухо наносили основу мазь, содержащую 5% соединения XLVIII.

Данные, представленные в таблице 10, свидетельствуют, что исследуемые соединения обладают способностью тормозить реакцию гиперчувствительности замедленного типа, индуцированную ТХБ.

20

Таблица 10

Влияние исследуемых соединений на ТХБ-индуцированную реакцию гиперчувствительности у мышей

Группы животных	Вес ушей, (г)		Прирост веса, (г)	Торможение реакции, (%)
	правого	левого		
1 группа	22,9±1,72	15,0±1,41	7,90±0,56	-
2 группа	20,35±1,21	15,4±1,12	4,9±0,5*	38%
3 группа	21,6±1,02	15,5±1,02	6,1±0,59*	24%
4 группа	17,9±0,94	14,2±0,98	3,7±0,81**	54%

25

* - достоверность различий по отношению к контрольной группе

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

ПРИМЕР 30

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I) НА РАЗВИТИЕ
ОСТРОГО ВОСПАЛЕНИЯ

5 А. Модель отека, индуцированного полным адъювантом Фрейнда.

Эксперимент проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 280-300 г. Модель отека лапы, индуцированного полным адъювантом Фрейнда (ПАФ), воспроизводили по методу Ezamuzie a. Umezurike [Ezamuzie Ch., Umezurike C.C./Effect of histamine H₂-
10 receptor antagonists on acute inflammatory of the rat paw oedema.// J. Pharmacol.- 1989.- vol. 41.- pp.261-265]. Измерение объема лап проводили на плетизмографе (Ugo Basile). Торможение воспалительной реакции, выраженное в процентах, рассчитывали по формуле:

15

$$100 - \left[\frac{\text{П-Л(опыт)}}{\text{Л}} : \frac{\text{П-Л(контроль)}}{\text{Л}} \right] \times 100 \quad (\%),$$

где П - объем правой лапы, Л - объем левой лапы.

20 Контроль - интактные животные, опыт - животные получавшие соединения.

Исследуемые соединения вводили животным внутривенно четырехкратно в дозе 50 мкг/кг через зонд в 0,5 мл 1% раствора
25 крахмала за 72, 48, 24 и 1 час до введения ПАФ. Препарат сравнения - напроксен вводили однократно в дозе 50 мг/кг за 1 час до индукции отека. Каждая группа включала 10 животных.

Группы животных:

1 группа - контроль, животные получали 0,5 мл 1% раствора
30 крахмала.

2 группа - животные получали соединение XLVIII.

3 группа - животные получали соединение III.

4 группа - животные получали Напроксен.

Данные представленные в таблице 11, свидетельствуют, что
35 соединения обладают способностью тормозить ПАФ-индуцированную воспалительную реакцию. Выраженность противовоспалительного

действия соединения III сравнима с эффектом Напроксена, суммарная доза которого была в 25 раз выше, чем исследуемого соединения.

Таблица 11

5

Влияние исследуемых соединений на ПАФ-индуцированный отек лап крыс

Группы животных	Объем лап, (усл. ед.)		Прирост объема	Торможение воспаления, (%)
	правой	левой		
1 группа	2,22±0,85	1,42±0,45	0,80±0,07	-
2 группа	1,95±0,48	1,30±0,62	0,65±0,04*	19%
3 группа	1,85±0,62	1,25±0,34	0,54±0,04**	32,5%
4 группа	1,75±0,54	1,30±0,25	0,45±0,02**	44%

10 *- достоверность различий по отношению к контрольной группе.

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

Б. Исследование влияния соединений на модели каррагенинового отека у крыс

15

Эксперимент проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 280-300 г. Каррагенин-индуцированный отек вызывали по методу Winter et al. [Winter et al. In: De Rosa M., Giroud J.P., Willoughby D.A./Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine.// J.Pharmacol.- 1971.- vol. 104.- pp.15-29]. Измерение объема лап проводили на плетизмографе (Ugo Basile) через 1, 3 и 4 часа после введения каррегина. Торможение воспалительной реакции, выраженное в процентах, рассчитывали по формуле:

$$100 - \left(\frac{\text{П-Л(опыт)}}{\text{Л}} : \frac{\text{П-Л(контроль)}}{\text{Л}} \times 100 \right) (\%),$$

где П - объем правой лапы, Л - объем левой лапы.

Контроль - интактные животные, опыт - животные получавшие соединения.

5 1 серия эксперимента. Исследуемые соединения вводили животным внутривенно четырехкратно в дозе 50 мкг/кг через зонд в 0,5 мл 1% раствора крахмала за 72, 48, 24 и 1 час до введения ПАФ. Препарат сравнения -напроксен вводили однократно в дозе 20 мг/кг за 1 час до индукции отека. Каждая группа
10 включала по 10 животных.

Группы животных:

1 группа - контроль, животные получали 0,5 мл 1% раствора крахмала.

2 группа - животные получали соединение III.

15 3 группа - животные получали соединение II.

4 группа - животные получали Напроксен.

Данные представленные в таблице 12, свидетельствуют, что соединения при пероральном введении обладают способностью тормозить каррагинин-индуцированную воспалительную реакцию.
20 Выраженность противовоспалительного действия соединения III сравнима с эффектом Напроксена, суммарная доза которого была в 10 раз выше, чем исследуемого соединения.

Таблица 12

25 Влияние исследуемых соединений на каррагинин-индуцированный отек лап крыс при пероральном введении

Группы животных	Объем лап, (усл. ед.)		Прирост объема	Торможение воспаления, (%)
	правой	левой		
1 группа	2,12±0,63	1,35±0,23	0,77±0,04	-
2 группа	1,72±0,27	1,23±0,41	0,49±0,07**	30%
3 группа	1,92±0,65	1,28±0,28	0,64±0,05* ¹	12, %
4 группа	1,82±0,54	1,34±0,25	0,48±0,02*	37%

* - достоверность различий по отношению к контрольной группе.

** - $p < 0,01$; *¹ - $< 0,1$.

2 серия эксперимента. В лапы крыс сублатерально вводили 2% раствор каррагинина. Через 1 минуту на правую лапу наносили гель в объеме 0,1 мл, в состав которого входили исследуемые соединения. Основа геля состояла из пропиленгликоля, растворенного в смеси воды и этанола. Концентрация соединений в геле составляла 1%. Объем лап измеряли через 4 часа после введения каррагинина.

Группы животных:

- 1 группа - контроль -1, на лапу наносили гель без соединения.
- 10 2 группа - наносимый гель содержал соединение XL.
- 3 группа - наносимый гель содержал соединение III.
- 4 группа - наносимый гель содержал соединение XXXVI.
- 5 группа - наносимый гель содержал соединение XIII.
- 6 группа - контроль 2, на лапу наносили гель без соединения.
- 15 7 группа - гель содержал 1% Вольтарена.

Данные, представленные в таблице 13, свидетельствуют, что соединения при накожном введении обладают способностью тормозить каррагинин-индуцированную воспалительную реакцию. Выраженность противовоспалительного действия соединений сопоставима с эффектом препарата сравнения - Вольтарена.

Таблица 13

Влияние исследуемых соединений на каррагинин-индуцированный отек лап крыс при накожном введении

Группы животных	Объем лап, (усл. ед.)		Прирост Объема	Торможение воспаления, (%)
	правой	левой		
1 группа - контроль-1	2,56±0,83	1,84±0,13	0,72±0,08	-
2 группа	2,12±0,36	1,87±0,24	0,29±0,08**	63%
3 группа	2,13±0,64	1,83±0,21	0,30±0,06**	60%
4 группа	2,23±0,42	1,86±0,16	0,37±0,07**	50%
5 группа	2,29±0,18	1,82±0,34	0,47±0,08**	35%
6 группа-контроль-2	2,42±0,25	1,56±0,34	0,74±0,06	-
7 группа	1,99±0,24	1,63±0,26	0,40±0,03**	48%

* – достоверность различий по отношению к контрольной группе.

** – $p < 0,01$.

ПРИМЕР 31

5

ОЦЕНКА ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I) НА МОДЕЛИ НЕИНФЕКЦИОННОГО ГРАНУЛОМАТОЗА ЛЕГКИХ

Противовоспалительное и иммуномодулирующее действие
10 соединения III при внутрижелудочном введении изучали на модели
неинфекционного гранулематоза легких.

В эксперименте использовали 20 самок крыс Вистар, возрастом
4 месяца, масса тела 200 – 220 г. Выбор крыс Вистар обусловлен
тем, что при аэрозольном введении Сефадекса А-25 в легких
15 развивается гранулематозный воспалительный процесс [Макарова
О.В., Ковалева В.Л., Сладкопцевцев А.С., Михайлова Л.П.,
Носейкина Е.М.: Экспериментальная модель неинфекционного
гранулематоза легких. Пульмонология. 1996. – №1, с. 76–79].
Данные по количеству животных в группах представлены в таблице
20 14.

Таблица 14

Группы эксперимента и количество животных в них.

п/п	Группа наблюдений	Количество животных
1.	Контроль (интактные животные)	12
2.	Сефадекс А-25 (7 сутки)	12
3.	Сефадекс А-25 + соединение III	16

25

Методика аэрозольного введения Сефадекса А-25

Крысам с помощью оригинального дозирующего устройства НИИ
30 медицинского приборостроения для ингаляционного введения сухих

порошков, под эфирным наркозом вводили сефадекс А-25 в дозе 5 мг на 1 кг массы тела. Крысы Вистар после введения Сефадекса А-25 быстро выходили из наркоза и внешне каких-либо особенностей в поведении, характере дыхания у них не отмечалось. Соединение III вводили 5 внутрижелудочно с помощью желудочного зонда в дозе 50 мг на 1 кг массы тела, после чего сразу проводили однократное аэрозольное введение Сефадекса А-25 по методике описанной ранее. Затем ежедневно в течение 6 дней 1 раз в день вводили 10 внутрижелудочно соединение III, в дозе 50 мг/кг массы тела, в виде водного раствора. Исследование крыс проводили на 7 сутки после начала введения соединения III и Сефадекса А-25.

Бронхоальвеолярный смыв получали под гексеналовым наркозом. В жидкости бронхоальвеолярного смыва определяли цитоз - абсолютное число клеток в 1 мл. В мазках, окрашенных по 15 Романовскому-Гимзе, подсчитывали эндопульмональную цитограмму (в процентах). После процедуры бронхоальвеолярного смыва легкие с трахеей извлекали из грудной полости и макропрепарат помещали в 2% раствор уксусной кислоты. Через 18-24 часа трахею, главный и долевые бронхи рассекали под лупой; методом точечного счета под 20 лупой оценивали объемную плотность лимфоидных фолликулов. Проводили гистологическое исследование легких, окрашенных гематоксилином и эозином. Методом точечного счета определяли объемную плотность альвеолита и эмфиземы.

Гистологическое исследование легких крыс контрольной группы 25 (интактные животные) не выявило каких-либо патологических изменений. При гистологическом исследовании легких крыс Вистар на 7-е сутки после аэрозольного воздействия сефадекса А-25 была выявлена морфологическая картина гранулематозного воспалительного процесса: зрелые макрофагальные гранулемы, 30 острый бронхит и альвеолит с нейтрофильным компонентом, очаговая эмфизема. Гранулемы располагались по ходу соединительной ткани легких, большинство из них выявлялись в соединительной ткани по ходу кровеносных сосудов, ветвей легочной артерии, легочных вен, а также в стенке бронхов. Небольшая часть мелких макрофагальных 35 гранулем определялась в интерстиции "углов" межальвеолярных перегородок, альвеолярных ходов, респираторных и терминальных

бронхиол. Клеточный состав гранулем был представлен преимущественно макрофагами, а также единичными нейтрофилами и лимфоцитами. При морфометрическом исследовании у крыс Вистар в легких показатели объемной плотности альвеолита и эмфиземы составили, соответственно, $7,0 \pm 3,0$ и $15,1 \pm 5,1$ % (таблица 15).

Таблица 15

Морфометрическая характеристика легочной ткани крыс Вистар после аэрозольного воздействия сефадекса А-25 и при введении соединения III

№ п/п	Группа животных	Объемная плотность, в %	
		Альвеолит	Эмфизема
1.	Контроль (интактные животные)	--	$1,8 \pm 1,0$
2.	Сефадекс А-25 (7 сутки)	$7,0 \pm 3,0$	$15,1 \pm 5,1$
3.	Сефадекс А-25 + соединение III	$3,8 \pm 1,0$	$11,2 \pm 3,2$
Достоверность различий		1 - 2	--
Р		2 - 3	$>0,05$
		1 - 3	--
			$<0,05$
			$>0,05$
			$<0,05$

По данным цитологического исследования жидкости бронхоальвеолярного смыва у крыс Вистар на 7-е сутки после аэрозольного воздействия Сефадекса А-25 показатель цитоза возрастал по сравнению с контролем (таблица 16). В эндопульмональной цитограмме отмечалось увеличение показателей процентного содержания нейтрофилов и лимфоцитов, но различия были статистически не достоверны.

Таблица 16

Показатели цитоза и клеточного состава бронхоальвеолярного
 5 смыва крыс Вистар после аэрозольного воздействия Сефадекса
 А-25 и обработки соединением III

№ п/п	Группа наблюдений	Цитоз (абсол. кол-во кл. в 1 мл)	Эндопульмональная цитограмма в %		
			Макрофаги	Лимфоциты	Нейтрофилы
1.	Контроль (интактные животные)	$0,168 \pm 0,050$	$95,5 \pm 1,1$	$3,7 \pm 1,1$	$0,8 \pm 0,2$
2.	Сефадекс А- 25 (7 сутки)	$0,189 \pm 0,042$	$54,2 \pm 9,4$	$15,3 \pm 1,1$	$34,0 \pm 12,0$
3.	Сефадекс А- 25 + соединение III	$0,169 \pm 0,054$	$75,2 \pm 4,5$	$7,6 \pm 1,5$	$16,8 \pm 2,6$
Достовер- ность различий р	1 - 2	$>0,05$	$<0,05$	$<0,01$	$<0,05$
	1 - 3	$>0,05$	$<0,05$	$<0,05$	$<0,05$
	2 - 3	$>0,05$	$>0,05$	$<0,01$	$>0,05$

10

В группе крыс, обработанных соединением III, при
 гистологическом исследовании легких была также выявлена картина
 гранулематозного воспаления. По данным морфометрического
 15 исследования, распространенность альвеолита и эмфиземы
 уменьшалась и составила, соответственно $3,8 \pm 1,0$ и $11,2 \pm 3,2\%$,
 но различия были статистически не достоверны (таблица 15). По
 данным цитологического исследования в группе крыс, обработанных
 соединением III, показатель цитоза нормализовался (таблица 16).
 20 В эндопульмональной цитограмме значительно снизилось процентное
 содержание нейтрофилов и лимфоцитов, однако нормализации

показателей не наблюдалось.

Влияние соединения III на иммунную систему легких оценивали по действию его на лимфоидную ткань, ассоциированную с бронхами. Морфометрические показатели объемной плотности лимфоидной ткани, ассоциированной с бронхами, представлены в таблице 17.

Таблица 17

Морфометрическая характеристика бронхоассоциированной лимфоидной ткани у крыс Вистар после аэрозольного воздействия Сефадекса А-25 и обработки соединением III

№ п/п	Группа наблюдений	Объемная плотность лимфоидных фолликулов, в %
1.	Контроль (интактные животные)	$15,0 \pm 3,9$
2.	Сефадекс А-25 (7 сутки)	$44,8 \pm 3,7$
3.	Сефадекс А-25 + соединение III	$34,7 \pm 10,3$
Достоверность		1 - 2
Различий		1 - 3
Р		2 - 3
		<0,05
		>0,05
		>0,05

15

В норме у крыс Вистар показатель объемной плотности лимфоидных фолликулов был низким и составлял $15,0 \pm 3,9$ %. На 7-е сутки после аэрозольного воздействия сефадекса А-25 отмечалась выраженная гиперплазия лимфоидного аппарата легких, показатель объемной плотности лимфоидных фолликулов составлял $44,8 \pm 3,7$ %. В группе крыс, обработанных соединением III, определялась тенденция к снижению объемной плотности лимфоидных фолликулов до $34,7 \pm 10,3$ %.

Таким образом, на модели неинфекционного гранулематоза легких, вызванного Сефадексом А-25, выявлена

противовоспалительная активность соединения III. По данным морфологического, морфометрического и цитологического исследования соединение III вызывает снижение выраженности экссудативного компонента воспаления, распространенности альвеолита, подавление гиперплазии лимфоидной ткани.

ПРИМЕР 27

10 ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ОДНОГО ИЗ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ
ФОРМУЛЫ (I) В ОПЫТЕ *in vivo*

Антиоксидантная активность исследовали в опыте *in vivo* на модели острого токсического поражения печени четыреххлористым углеродом (CCl_4).

15 Эксперимент проводили на 40 беспородных крысах-самцах с исходной массой 190-200 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Каждая группа состояла из 10 животных. Поражение печени (экспериментальный гепатит) у животных вызывали введением CCl_4 внутрижелудочно в виде 50% раствора в вазелиновом масле в объеме
20 0,25 мл на 100 г массы тела в течение 3 дней [Венгеровский А.И., Чучалин В.С., Паульс О.В., Саратиков А.С. / Влияние гепатопротекторов на метаболизм липидов при CCl_4 - гепатите.// Бюлл. exper. биол.- 1987.- №4.- с. 430-432]. Исследуемое
соединение III вводили животным внутрижелудочно в дозах 50 и 500
25 мкг/кг в течение трех суток в дни введения CCl_4 (3 и 4 группы). Животным контрольной группы вводили CCl_4 , как описано выше (2 группа). Интактные животные получали перорально физиологический
раствор в эквивалентном количестве (1 группа).

Образцы крови и печени брали на анализ через 18 часов после
30 последнего введения CCl_4 .

Содержание первичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) - диеновые конъюгаты, диеновые кетоны и триены, определяли методом [Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. /Сопоставление различных подходов к
35 определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови.// Вопр. мед. химии.- 1989.-

№ 1. - с. 127-131]. Расчет содержания продуктов ПОЛ проводили, соотнося величины соответствующих экстинкций к 1 мл исследуемой пробы.

Количество конечных продуктов ПОЛ - малонового диальдегида (МДА) - определяли по тесту с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [Коробейникова Э.Н. / Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой.// Лаб. дело.- 1989.- №7.- с.8-10]. Концентрацию ТБК-активных продуктов рассчитывали с помощью уравнения регрессии.

10 Содержание МДА в печени экспериментальных животных оценивали модифицированным методом [Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. / Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты.// В кн: Современные методы в биохимии.- М.- Медицина.- 1977.- с.66-69], проводя предварительную экстракцию липидов по

15 Фолчу [Кейтс М. Техника липидологии.- М.- Мир.- 1975.- с. 74-76].

Результаты, представленные в таблице 18, свидетельствуют, что введение крысам CCl_4 приводило к накоплению продуктов ПОЛ в сыворотке крови и печени. У животных экспериментальных групп,

20 которым вводили исследуемое соединение, отмечалось достоверное снижение содержания первичных продуктов ПОЛ в печени и МДА в сыворотке крови и в печени.

Таблица 18

25

Влияние исследуемых соединений на содержание продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови и печени крыс с экспериментальным гепатитом

Показатели	Сыворотка крови, МДА, нМ/мл	Печень, МДА, нМ/мг ткани	Печень, диеновые конъюгаты, E_{232} /мг ткани	печень, диеновые кетоны, триены, E_{278} /мг ткани
Группы животных				
1 гр. интактные	$3,59 \pm 0,16$	$4,68 \pm 0,21$	$15,26 \pm 0,48$	$7,45 \pm 0,34$
контроль 2 гр. CCl_4	$5,34 \pm 0,054^{**1}$	$7,18 \pm 0,43^{***1}$	$19,12 \pm 1,07^{*1}$	$12,44 \pm 0,98^{*1}$

3 гр. одновременное введение CCl_4 и соединение в дозе 50 мкг/кг	$4,05 \pm 0,198^{*2}$	$4,98 \pm 0,13^{**2}$	$16,25 \pm 0,61$	$8,42 \pm 0,25^{**2}$
4 гр. одновременное введение CCl_4 и соединение в дозе 500 мкг/кг	$3,89 \pm 0,11^{**2}$	$5,01 \pm 0,17^{**2}$	$15,89 \pm 0,38$	$8,24 \pm 0,19^{*2}$

* – достоверность различий. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Цифры 1 и 2 – номера групп, по отношению к которым различия
5 достоверны.

Результаты показали, что соединение III общей формулы (I) обладает выраженным антиоксидантным действием в модели острого токсического поражения печени.

10

ПРИМЕР 33

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P-450 ПЕЧЕНИ ПОД ВЛИЯНИЕМ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I)

15 А. Влияние соединений общей формулы (I) на продолжительность гексеналового сна у животных

Изменение длительности гексеналового сна (ГС) – показатель состояния системы цитохрома P-450 печени, измеряемый *in vivo*.

Исследования проводили на мышах-самцах линии BALB/c^{h75},
20 C57Bl/6, CBA, DBA/2, гибридах первого поколения CBF1 и BDF1 с
исходной массой 18–20 г, в каждой группе использовали по 10
мышей, и на беспородных морских свинках-самцах с исходной массой
250–300 г, каждая группа содержала 24 животных. Все соединения
исследуемого ряда (II–LII) вводили перорально в питьевой воде и
25 в течение 3-х суток в дозах 50 и 500 мкг/кг. Гексенал-
гидрохлорид в дозе 36 мг/кг массы животного вводили через 24

часа после последнего введения препарата, за исключением мышей линии BALB/c*^h75, которым вводили гексенал в дозе 60 мг/кг в те же сроки, и морских свинок, для которых доза гексенала составляла 30 мкг/кг. Длительность ГС определяли в минутах.

- 5 В таблице 19 представлены данные изменения длительности гексеналового сна (ГС) у мышей различных линий, гибридов BDF1 и CBF1, а также морских свинок под влиянием соединений общей формулы (I). Показано, что соединения снижают длительность ГС у подопытных животных как в дозе 50, так и 500 мкг/кг.

10

Таблица 19

Изменение длительности гексеналового сна у животных
под влиянием исследуемых соединений

Соединение	Животные	Длительность гексеналового сна (мин)		
		Контроль	Дозы соединения	
			50 мкг/кг	500 мкг/кг
XLIV	BALB/c* ^h 75	29,16±5,68	26,50±3,49	16,72±1,27***
XLIV	CBA	21,88±1,34	17,98±1,66*	16,13±1,86**
XLIV	BDF1	23,78±0,78	-	20,33±0,59*
XLIV	морские свинки	24,76±3,23	13,48±1,02*	-
XXXIII	CBF1	25,91±1,57	-	19,82±2,12*
XLVIII	CBF1	25,91±1,57	16,27±1,26**	20,91±1,48*
XLIX	CBF1	25,91±1,57	19,68±2,04**	-
III	То же	То же	19,61±2,69**	22,02±1,45*
II	То же	То же	-	21,72±1,24*
IV	То же	То же	20,39±1,59*	-
XI	То же	То же	-	17,71±0,66***
VII	То же	То же	17,62±0,96*	16,99±1,33*
IX	То же	То же	16,71±0,94**	20,76±1,32

XLVI	То же	То же	16,91±1,28**	13,21±0,70***
XXXI	То же	То же	12,59±0,88***	12,61±1,45***
X	То же	То же	13,37±1,78***	12,01±1,23***
XII	То же	То же	19,74±1,94*	17,12±1,90**
VI	То же	То же	16,86±1,38***	14,39±1,73***
LII	То же	То же	21,14±1,39	-

* - достоверность различий по отношению к контрольной группе.

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

5 При изучении изменения длительности ГС под влиянием всех остальных соединений общей формулы (I) на мышцах СВФ1 показано, что вещества снижают длительность ГС от 13% до 54%, по сравнению с контролем.

10 Таким образом, все исследованные соединения уменьшают длительность гексеналового сна, что свидетельствует об индукции ими системы цитохрома Р-450 печени.

Б. Изменение содержания терминальной оксидазы и цитохрома v_5 под влиянием соединений общей формуле (I)

15 Изменение состояния монооксигеназной системы печени изучали на беспородных морских свинках-самцах с исходной массой 250-300 г, каждая группа включала 12 животных. Исследуемое соединение III и Фенобарбитал (ФБ) вводили трехкратно за 72, 48 и 24 часа до проведения исследования монооксигеназной системы. Содержание
20 цитохромов Р-450 и v_5 измеряли по методу [Omura T., Sato R./The monooxide binding pigment of liver microsomes. 11. Solubilization, purification and properties, // J.Chem.-1964.- vol. 239.-pp. 2379-2385.] в микросомальной фракции печени, выделенной методом дифференциального центрифугирования [Ahokas
25 J., Pelkonen O., Karkin N./Characterisation of BP-hydroxylase of Trout-liver. // Cancer res.-1977.- vol. 37.-pp. 3737-3743]. Для определения групп цитохромов Р-450В и Р-450Л использовали приоритетный метод [Изотов М.В., Щербаков В.М., Девиченский В.М. и др. / Способ определения содержания изоферментов
30 цитохрома Р-450 в микросомах печени. // А.С. № 1488738 .-Б.И.-

1989.-№ 3.-6.06.09, МКИ, 01.- № 33/15, № 33/48.]. Содержание микросомального белка определяли модифицированным методом Лоури [Hartree E. /Determination of protein: a modification of the Lowry method, that gives a linear photometric responses.//Ann. Biochem.-1972.- vol. 48.-pp. 422-427].

Результаты, представленные в таблице 20 свидетельствуют, что у морских свинок, предобработанных исследованным соединением и ФБ, достоверно повышается общее содержание цитохромов Р-450 и V_5 в печени. При этом у животных групп 2 и 3 отмечалось достоверное увеличение количества цитохромов Р-450В, а у животных, получавших изучаемое соединение общей формулы (I), также соотношения цитохромов Р-450В к Р-450Л и соотношения цитохромов V_5 и Р- 450.

Выявлено, что тестируемое соединение изменяет систему цитохрома Р-450 печени подобно ФБ, однако имеет свои особенности, такие как повышение соотношения цитохромов Р-450В/Р-450Л и цитохрома V_5 к Р-450.

Таблица 20

Изменение состояния системы цитохрома Р-450 печени
под влиянием исследуемых соединений

Группы животных	Контроль 1	Фенобарбитал 2	Соединение 3
Показатели			
цитохром V_5 нмоль/мг белка	0,61±0,02	1,21±0,10*	1,00±0,03*
цитохром Р-450 нмоль/мг белка	0,82±0,07	1,50±0,09*	1,03±0,03
цитохромы Р-450В нмоль/мг белка	0,43±0,03	0,76±0,08*	0,72±0,02*
Р-450В/Р-450Л	1,10	1,02	2,32**
V_5 /Р-450	0,82	0,81	0,97*

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ - достоверность различий по отношению к контрольной группе.

5 ПРИМЕР 34

ИЗМЕНЕНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА ЖИВОТНЫХ ПОД ВЛИЯНИЕМ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I)

10 Исследования проводили на беспородных морских свинках-самцах с исходной массой 250-300 г, в каждой группе использовали по 12 животных. Сенсибилизацию животных осуществляли как описано в примере 27. Кровь для определения гормонов у животных отбирали до начала эксперимента и через 18 часов после последнего
15 введения препарата с 10 до 11 часов. Вещество вводили сенсибилизированным и интактным животным в дозе 50 мкг/кг трехкратно перорально за 72, 48 и 18 часов до повторного взятия крови. Сравнительный анализ изменения гормонального статуса проводили по индивидуальным изменениям у каждого животного в
20 группе. В таблице 21 приведены средние значения показателей по группам, выраженные в нмоль/л.

Содержание гормонов прогестерона, 17-оксипрогестерона, 11-дезоксикортизола и кортизола в сыворотке крови определяли радиоиммунологическим методом с использованием наборов фирмы
25 «Белорис». Концентрация гормона в пробах определялась по графику зависимости активности осажденного связанного меченного гормона от концентрации гормона в калибровочных пробах.

Результаты эксперимента представлены в таблице 21. Введение соединения XLIV интактным животным приводило к достоверному
30 повышению количества свободного кортизола (F), его предшественников оксипрогестерона (17-ОН-Р) и дезоксикортизола и, отмечалась тенденция к увеличению содержания прогестерона (Р). У сенсибилизированных морских свинок выявлено достоверное уменьшение количества F и 17-ОН-Р и тенденция к снижению Р в
35 сыворотке крови. У сенсибилизированных животных, которым вводили соединение, отмечалась нормализация содержания F и

дезоксикортизола в сыворотке крови и достоверное увеличение количества Р и 17-ОН-Р.

При введении экспериментальным животным, как интактным, так и сенсibilизированным, соединения III отмечались аналогичные изменения гормонального статуса.

Таблица 21

Изменение содержания гормонов в сыворотке крови
под влиянием исследуемых соединений

Группы животных	Сенсибилизация	Сенсибилизация + соединение 50 мкг/кг	Соединение 50 мкг/кг
Показатели			
Кортизол			
Контроль	3079,1	1910,3	1474,5
Опыт	2157,7*	1997,0	1891,5*
Прогестерон			
Контроль	3,91	1,73	2,53
Опыт	3,20	5,08**	2,87
Оксипрогестерон			
Контроль	2,95	1,79	2,83
Опыт	1,93*	2,31*	3,88*
Дезоксикортизол			
Контроль	21,58	28,9	20,8
Опыт	20,91	33,5	30,95*

10

Количество гормонов в крови рассчитывали в нмоль/л.

* - достоверность различий вычисляли по отношению к индивидуальному контролю. * - $p < 0,05$; *** - $p < 0,001$

15 ПРИМЕР 35

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I) НА МЕТАБОЛИЗМ $[C^{14}]$ -
АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ГОМОГЕНАТЕ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ

Исследования проводили на мышах-самках линии СВА, находившихся на стандартном рационе вивария. Животным вводили соединение в дозе 50 мкг/кг и фенobarбитал в дозе 80 мг/кг в течение трех дней. Затем животных забивали, извлекали легкие, замораживали их в жидком азоте, гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе фирмы «Wheaton» (США) при +4°C в 10 объемах 0,05 М трис-HCl буфера. Аликвоты (0,5 мл) супернатанта инкубировали с 0,5 мкКю [1- C^{14}]-арахидоновой кислоты ([C^{14}]-АК), «Amersham», Англия; удельная активность 50-60 мКю/ммоль) при +37°C в течение 30 мин. Экстракцию неметаболизированной [C^{14}]-АК и продуктов ее метаболизма осуществляли в 20 объемах смеси хлороформа и метанола (1:1), при эффективности экстракции не менее 90%, оцененной с помощью [C^{14}]-ПГФ_{2α}. Разделение и идентификацию [C^{14}]-АК и ее метаболитов осуществляли при помощи тонкослойной хроматографии (пластины Kieselgel 60 фирмы «Merck», Германия), с использованием органической фазы системы растворителей (этилацетат:изооктан:уксусная кислота:вода - 110:50:20:100) и меченных стандартов. Авторадиохроматограммы, полученные на рентгеновской пленке X-Omat AR («Kodak», США) и HS 11 («ORWO», Германия), денситометрировали на денсискане KS 3 («Kipp and Zonnen», Голландия). Количественный анализ отдельных эйкозаноидов проведен с помощью радиометрии фракций, полученных высокоэффективной жидкостной хроматографией (HPLC-система фирмы «Gilson», Франция; колонка ZORBAX C8 фирмы «Du Pont», США) и элюированием пятен на ТСХ-пластинках.

Результаты эксперимента представлены в таблице 22. Выявлено, что исследованное соединение стимулирует образование циклооксигеназных метаболитов АК, а именно увеличивает синтез простагландина E₂ (ПГЕ₂), 6-кето-ПГФ_{1α}, ПГФ_{2α}, и липоксигеназный путь метаболизма АК - повышает образование 5-НЕТЕ и ННТ. При этом наблюдается снижение метаболизма АК в системе цитохрома P-450 - 12-НЕТЕ и 15-НЕТЕ. Следует отметить, что изменение профиля метаболитов АК у животных, предобработанных одним из соединений общей формулы (I), сходно с тем, которое выявлено у животных, получавших Фенobarбитал - известный индуктор системы цитохрома P-450.

Таблица 22

Влияние соединения III на метаболизм арахидоновой кислоты

Группы Фракции	Контроль	Фенобарби- тал	Контроль	Соединение
	1	2	3	4
	% конверсии АК			
Фосфолипиды	8,17±0,33	8,18±0,21	7,65±1,65	7,41±0,25
6-кето-ПГГ _{1α}	4,83±0,47	4,12±0,12	6,80±0,56	7,95±0,28
ПГГ _{2α}	6,27±0,18	7,91±0,08	6,40±0,50	8,05±0,15
ТХВ ₂	4,10±0,20	6,21±0,18	5,10±0,30	5,76±0,24
ПГЕ ₂	2,47±0,20	3,82±0,14	2,40±0,11	3,07±0,11
5-НЕТЕ+ННТ	10,07±0,18	10,5±0,26	10,80±0,31	13,64±0,26
12-,15-НЕТЕ	34,80±0,35	27,1±0,11	38,55±0,78	23,82±0,82
Неметаболизиро- ванная АА	19,97±0,26	14,5±0,28	2,85±0,15	15,32±1,56

5

ПРИМЕР 36

ИЗМЕНЕНИЕ АНТИГЕН-ЗАВИСИМОЙ СЕКРЕЦИИ ГИСТАМИНА ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМИ
 10 ТУЧНЫМИ КЛЕТКАМИ СЕНСИБИЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ
 СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I)

Сенсибилизацию крыс-самцов Вистар, с исходной массой 200-
 250г, проводили по методу [Guschin I.S., Voitenko V.G., Sviridov
 15 B.D. et al./A polyfunctional molecule produce by the conjugation
 of synthetic polyionimmunostimulant with specific antigen and an
 inhibitor of mast cell activation. Effects on histamine
 release.// Agents and Actions.-1989. -vol. 27.- S.-pp. 75-78].
 На 14-й день сенсибилизации у животных по стандартной методике
 20 [Fredholm B.B., Gyschin I.S., Flwin K. et al./ Cyclic AMP-
 independ inhibition by papaverine of histamine release induced
 by compound 48/80.//Biochem. Pharmacol.-1976.-vol. 25.-pp. 1583-
 1588.] выделяли клеточную взвесь из брюшной полости, определяли

спонтанную и стимулированную куриным овальбумином (ОВА) секрецию гистамина тучными клетками (ТК), а также содержание гистамина в ТК контрольных и опытных животных. Клеточную взвесь в количестве 2 мл, содержащую $0,1-0,2 \times 10^6$ ТК/мл инкубировали в присутствии 200 мкг/мл ОВА. Секрецию гистамина выражали в процентах к его общему содержанию. Количество гистамина в образцах определяли спектрофлуориметрически [Short P.A., Burkhalter A., Cohn V.N./ A method for fluometric assay of histamine in tissues.// J.Pharmacol., exp. Ther.- 1959.-vol. 127.-pp. 182-186.]

- Исследуемые соединения вводили животным внутривентриально по следующей схеме - в течение 3-х дней перед исследованием ТК: исследуемое соединение - в дозе 50 мкг/кг (2 группа), Супрастин - в дозе 1000 мкг/кг (3 группа). Животные контрольной группы получали внутривентриально физиологический раствор (1 группа). В каждой группе использовали по 10 животных.

Результаты исследования представлены в таблице 23. Показано, что введение соединения XLV общей формулы (I) достоверно снижает антиген-зависимую секрецию гистамина ТК. При этом отмечено достоверное повышение спонтанной секреции гистамина ТК. Данные изменение происходят на фоне снижения количества гистамина в ТК сенсibilизированных животных, получавших одно из исследованных соединений.

Таблица 23

- Изменение секреции гистамина тучными клеткам сенсibilизированных крыс под влиянием соединения XLV

Показатели	Воздействие		
	Контроль 1	Соединение 2	Супрастин 3
Спонтанная секреция, %	5,24	9,63 ^{*1,3}	5,62
Стимулированная секреция, %	7,16	2,32 ^{*1,3}	7,02
Содержание гистамина, мкг/10 ⁶ ТК	25,62	16,90 ^{*1}	16,24 ^{*1}

* - $p < 0,05$ - достоверность различий. Статистическая обработка с применением критерия хи-квадрат.

ПРИМЕР 37

5

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I) НА ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ
ФОРМ КИСЛОРОДА В МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ

Изучалось влияние соединений общей формулы (I) на изменение
10 хемилюминесценции (ХЛ), обусловленной образованием
гидроксильного радикала ($\cdot\text{OH}$) и супероксидного анион-радикала (O_2^-), в модельных химических и ферментативных системах.

Активные формы кислорода (АФК) различной природы генерировали в следующих системах:

15 А. Гидроксильный радикал - в смеси FeSO_4 с H_2O_2 (реактив Фентона) [Halliwell B. / Superoxide-dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of iron salts.// FEBS Lett.- 1978.- vol. 96.- pp. 238-241].

Инкубационная среда состояла из 5 мМ KH_2PO_4 (pH 7,4); 5 мМ
20 FeSO_4 ; 2 мМ люминола. H_2O_2 в конечной концентрации 5 мМ вводили в кювету через диспендер после того, как было зарегистрировано фоновое свечение смеси реагентов. Исследуемые соединения, растворенные в воде, в необходимой концентрации вносили в кювету в объеме 5-10 мкл. Общий объем пробы составлял 0,5 мл.

25 В. Супероксидный анион - радикал - в смеси ксантина и ксантинооксидазы [Afanasev I., Suslova T., Cheremisina Z. et al. / Study of antioxidant properties of metal aspartates.// Analyst.- 1995.- vol. 120.- pp. 859-862]

Инкубационная среда содержала следующие ингредиенты: 5 мМ
30 KH_2PO_4 ; 0,2 МЕ/мл ксантинооксидазы. Ксантин в концентрации 1 мМ вводили в пробу через диспендер. В качестве сенсibilизатора свечения в данной системе использовали люцигенин (0,2 мМ). Исследуемые вещества вводили аналогично тому как при исследовании гидроксильного радикала.

35 В предварительных исследованиях было показано, что соединения общей формулы (I) не влияют на активность ксантинооксидазы.

Измерение ХЛ описанных систем проводили при 25°C в режиме пульсового (в момент введения реагентов через диспендер) перемешивания. Индикация сигнала ХЛ осуществлялась путем его интегрирования каждые 10 сек. в течение 5 мин. Длительность регистрации вспышки ХЛ после смешивания ингредиентов зависела от кинетики конкретного процесса. Для каждой системы определяли светосумму ХЛ (мВ) в контрольных пробах без препаратов (I-) и в пробах в присутствии соответствующих концентраций препаратов (I+). Для оценки степени ингибирования (активации) ХЛ в изученных системах находили отношение I+/I- (относительные единицы).

Образование АФК и влияние на этот процесс исследуемых соединений регистрировали на приборе Luminometer-1251 (LKB, Швеция).

А. Влияние соединений общей формулы (I) на образование гидроксильного радикала в реактиве Фентона

При введении H₂O₂ в фосфатный буфер, содержащий сульфат железа, возникала вспышка ХЛ, которая была обусловлена образованием в реакционной смеси преимущественно гидроксильного радикала. Вспышка носила кратковременный характер, максимум интенсивности достигался на 10-й секунде и в течение следующих 10-20 секунд свечение гасло и показатели ХЛ уменьшались до фоновых значений.

В таблице 24 представлены данные исследования действия соединений на генерацию гидроксильного радикала в реактиве Фентона. Результаты показывают, что исследованные соединения ингибируют образование гидроксильного радикала в изученной системе.

Таблица 24

Влияние соединений формулы (I) на образование гидроксильного радикала

5

Соединение №	Интенсивность хемилюминисценции (МВ) $\pm \sigma_{n-1}$ концентрация испытуемых соединений			
	1ММ	0,1 ММ	0,01ММ	1 мкМ
контроль	7839 \pm 171			
XLIV	2197 \pm 311 0,28(*)	4625 \pm 393 0,59	6444 \pm 267 0,83	7747 \pm 259 1,0
XLV	1295 \pm 18 0,16	5800 \pm 247 0,74	7443 \pm 285 0,95	7666 \pm 101 1,0
контроль	1120 \pm 163			
III	164 \pm 14 0.15	719 \pm 71 0.64	972 \pm 79 0.87	1100 \pm 84 0.98
XI	557 \pm 52 0,50	-	1124 \pm 113	1116 \pm 90
VII	165 \pm 7 0,15	1158 \pm 102	-	-
IX	225 \pm 9 0,20	664 \pm 47 0,59	1069 \pm 72 0,95	-
II	175 \pm 21 0,16	693 \pm 42 0,62	772 \pm 44 0,69	961 \pm 42 0,86
Контроль	4974 \pm 283			
XII	189 \pm 13 0,04	575 \pm 69 0,12	2829 \pm 184 0,58	4438 \pm 285 0,89
VI	257 \pm 74 0,05	3110 \pm 210 0,63	5014 \pm 186	-
XXI	228 \pm 72 0,05	3265 \pm 184 0.66	4036 \pm 186 0.81	-

XIX	626±56 0.13	3377±222 0.68	3846±184 0.77	4909±269
XX	536±124 0.11	4018±201 0.81	4205±234 0.85	-
Контроль	1332±172			
XII ^a	615±81 0.46	1246±79 0.94	-	-

(*) - относительный эффект: $I+/I-$, где $I+$ - интенсивность ХЛ (мВ) в присутствии вещества; $I-$ - интенсивность ХЛ в аналогичной пробе без испытуемого вещества.

5

В. Влияние соединений общей формулы (I) на образование супероксидного анион-радикала в системе ксантин-ксантиноксидаза

Введение ксантина в среду, содержащую ксантиноксидазу и люцегенин, приводило к возникновению вспышки ХЛ, которая достигала максимума за 3-5 минут, после чего в изучаемой системе начиналось очень медленное уменьшение интенсивности хемилюминисценции. Добавление исследуемых соединений в смесь ксантин-ксантиноксидазы принципиально не меняло форму кривой ХЛ-ответа, варьировались только значения максимальной интенсивности ХЛ. Вследствие такой «растянутости» кинетической кривой регистрировалась светосумма хемилюминисценции за первые 3-5 минут, которая отражала суммарное количество квантов света, вырабатываемых в системе до достижения максимальных значений интенсивности ХЛ. Как видно из представленных данных (таблица 25) исследованные соединения обладают способностью достоверно ингибировать образование супероксидного анион-радикала.

25

30

Таблица 25

Влияние исследуемых веществ на образование
супероксидного анион-радикала

5

Соединение № п/п	Интенсивность хемилюминисценции (мВ) $\pm \sigma_{n-1}$ концентрация соединения			
	1 мМ	0,1 мМ	0,01 мМ	1 мкМ
Контроль	5616 \pm 173			
III	4027 \pm 683 0.72	5670 \pm 379	-	-
XI	2263 \pm 278 0.40	4621 \pm 224 0.82	-	-
VII	1114 \pm 51 0.20	4050 \pm 291 0.72	5082 \pm 278 0.91	-
Контроль	5391 \pm 195			
II	3143 \pm 156 0.58	4753 \pm 89 0.88	5229 \pm 140 0.97	-
Контроль	7290 \pm 128			
XII	1926 \pm 33 0.26	4730 \pm 139 0.65	6856 \pm 209 0.94	-
VI	902 \pm 15	5518 \pm 131	7295 \pm 106	-

	0.12	0.76		
XXI	4232±146 0.58	6460±166 0.89	-	-
Контроль	6776±150			
XII ^a	1955±155 0.29	2188±172 0.32	5471±421 0.81	6168±202 0.91

(*) - относительный эффект: $I+/I-$, где $I+$ - интенсивность ХЛ (мВ) в присутствии вещества; $I-$ - интенсивность ХЛ в аналогичной пробе без испытуемого вещества.

5

Результаты, представленные в примерах 24-37 показывают, что соединения общей формулы (I) обладают выраженной антигипоксической, антиаллергической и противовоспалительной активностью.

10

ПРИМЕР 38

15

ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I)

Исследование гепатопротекторных свойств соединений проводили на модели субхронического поражения печени (гепатита) четыреххлористым углеродом.

20

В эксперименте использовано 70 беспородных крыс-самок с исходной массой 190-200 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Животные были разделены на 7 групп (по 10 в каждой):

1 группа - контрольная, животным в течение первых четырех дней эксперимента вводили 0,2 мл вазелинового масла подкожно;

2 группа - животным в течение первых четырех дней вводили подкожно 50%-ный раствор CCl_4 в вазелиновом масле из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела;

3 группа - на фоне введения CCl_4 вводили Легалон в крахмальном геле перорально в течение 8 дней в дозе 30 мг/кг;

4 и 5 группы - аналогично 3 группе применяли соединение III в дозах 50 и 500 мкг/кг соответственно;

6 и 7 группы - аналогично 3 группе использовали соединение XLIV в дозах 50 и 500 мкг/кг соответственно.

10 Исследуемые соединения и Легалон животным вводили за 1 час до введения CCl_4 . Через 24 часа после последнего введения препаратов животных декапитировали.

Гепатопротекторную активность исследуемых соединений оценивали по следующим показателям:

15 1) в сыворотке крови:

- активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартат амино-трансферазы (АСТ);

- холестерин общий (ХС-общий);

20 - холестерин в составе липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП);

- холестерин в составе липопротеинов низкой и очень низкой плотности (ХС-ЛПНП и ХС-ЛПОНП, соответственно)

- триглицериды (ТГ);

- малоновый диальдегид (МДА);

25 2) в печени:

- липидный состав: фосфолипиды (ФЛ), свободный холестерин (СХС), триглицериды (ТГ);

- МДА.

Активность трансаминаз - АЛТ и АСТ, в сыворотке крови 30 оценивали общепринятым методом Френкеля-Райтмана [Лабораторные методы исследования в клинике.- под ред. Меншикова В.В.- М.- Медицина.- 1969.- 302 с].

Содержание ХС-общего в сыворотке крови определяли по методу Ильяка [Биохимические исследования в клинике.- под. ред. А.А. 35 Покровского.- М.- Медицина.- 1969.- с. 300-302]. Количество ХС-ЛПВП измеряли в супернатанте после гепарин-марганцевой

преципитации [Титов В.Н., Бренер Е.Д., Халтаев Н.Г., Задоя А.А., Творогова М.Г. / Метод и диагностическая значимость исследования содержания холестерина в α -липопротеидах.// Лаб. дело.- 1979.- №1.- с. 36-41] методом Ильяка [Биохимические исследования в клинике.- под. ред. А.А. Покровского.- М.- Медицина.- 1969.- с. 300-302]. Содержание ХС-ЛПНП и ХС-ЛПОНП рассчитывали по формуле [Friedwald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. /Estimation of concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge.// Clin. Chem.- 10 1972.- vol. 18.- pp. 499-502]:

$$\text{ХС-ЛПНП} = \text{ХС-общий} - (\text{ХС-ЛПВП} + \text{ТГ}/5),$$

где ТГ/5 соответствует содержанию в сыворотке крови ХС-ЛПОНП.

Для оценки количества ТГ в сыворотке крови использовали метод [Родионова Л.П. /Модификация метода определения содержания триглицеридов в сыворотке крови. // Лаб. дело.- 1980.- № 5.- с. 15 297-299].

Содержание конечных продуктов ПОЛ - МДА, в сыворотке крови определяли методом [[Коробейникова Э.Н. / Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с 20 тиобарбитуровой кислотой.// Лаб. дело.- 1989.- №7.- с.8-10]. Концентрацию ТВК-активных продуктов рассчитывали с помощью уравнения регрессии:

$$C = 0,21 + 0,26 D,$$

где С- концентрация ТВК-активных продуктов (в нмоль МДА на 1 мл 25 сыворотки), D - показатель $D_{535}-D_{580}$ (в единицах оптической плотности).

Суммарные липиды в печени экстрагировали модифицированным методом Фолча [Кейтс М. Техника липидологии.- М.- Мир.- 1975.- с. 74-76]. Количественное содержание липидных фракций оценивали 30 методом тонкослойной хроматографии (ТСХ), используя систему растворителей гексан:диэтиловый эфир:уксусная кислота в соотношении 80:20:2. Зоны индивидуальных липидных фракций определяли с помощью 10%-го спиртового раствора фосфорномолибденовой кислоты, которые после элюирования 35 анализировали спектрофотометрически при 600 нм.

Содержание МДА в печени определяли методом [Стальная И.Д.,

Гаришвили Т.Г. / Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты.// В кн: Современные методы в биохимии.- М.- Медицина.- 1977.- с.66-69].. Количество МДА рассчитывали, используя величину молярного коэффициента экстинкции окрашенного триметинового комплекса, образованного МДА с двумя молекулами ТВК:

$$E = 1,56 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \times M^{-1}$$

Результаты эксперимента свидетельствуют (таблица 26), что у животных, обработанных CCl_4 , отмечалась выраженная гиперферментемия. Введение соединений общей формулы (I) сопровождалось нормализацией активности АЛТ и АСТ в сыворотке крови, причем наибольшая выраженность гепатозащитного эффекта отмечалась при применении второго вещества.

15

Таблица 26

Влияние соединений общей формулы (I) на изменение активности трансаминаз в сыворотке крови у животных с экспериментальным гепатитом

20

Группы животных	Суточная доза, мг/кг	АЛТ, нмоль/с.л.	АСТ, нмоль/с.л.
Контроль, интактные	-	674±35	554±27
CCl_4 - 4 дня	-	789±30*	620±11*
Легалон + CCl_4	30,0	622±36**	531±22**
Соединение III + CCl_4	0,50	609±42**	522±33**
Соединение III + CCl_4	0,05	624±31*	478±26***
Соед-ние XLIV + CCl_4	0,50	551±28**	475±19***
Соед-ние XLIV + CCl_4	0,05	599±18***	470±17***

* - достоверность различий с данными контрольной группы,

* - $p < 0,05$.

, * - достоверность различий с данными группы животных с экспериментальным гепатитом (CCl₄). ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

Анализ полученных данных липидного состава сыворотки крови экспериментальных животных показал (таблица 27), что токсическое поражение печени сопровождается гипертриглицеридемией. В распределении холестерина во фракциях липопротеинов при воздействии CCl₄ отмечались некоторые особенности - наряду с повышением содержания общего холестерина и ХС-ЛПОНП, возросло количество ХС-ЛПВП и снизилось содержание ХС-ЛПНП. На фоне введения Легалона и исследуемых соединений наблюдалась тенденция к снижению содержания общего холестерина, нормализация количества ХС-ЛПНП, ХС-ЛПОНП и ХС-ЛПВП.

Таблица 27

Влияние соединений общей формулы (I) на изменение содержания холестерина и триглицеридов в сыворотке крови у животных с экспериментальным гепатитом

Группы животных	Содержание холестерина, мг/100 мл				Содержание ТГ, Мг/100 мл
	ХС-общий	ХС-ЛПВП	ХС-ЛПНП	ХС-ЛПОНП	
Контроль, Интактный	77,6±2,9	47,3±2,1	18,4±0,7	11,7±0,4	59,5±2,5
CCl ₄ - 4 дня	93,5±6,0*	60,8±4,6*	12,1±1,1	20,4±1,6*	102,9±8,1*
Легалон + CCl ₄	90,9±3,4	54,8±2,5	20,1±1,1** $p < 0,01$	15,7±1,1** $p < 0,05$	78,0±6,2** $p < 0,05$
Соед-е III, 0,5 мкг/кг + CCl ₄	87,0±2,6	59,3±2,6	12,0±0,6	15,8±1,0** $p < 0,05$	78,6±5,4** $p < 0,05$
Соед-е III, 0,05 мкг/кг + CCl ₄	89,5±3,8	52,3±2,9	19,6±1,4** $p < 0,01$	17,7±2,0	88,0±10,2

Соед. XLIV 0,5 мкг/кг + CCl ₄	87,2±6,5	57,5±5,1	17,1± 1,0** p<0,01	12,4±0,7** p<0,001	62,4±3,9** p<0,001
Соед XLIV 0,05 мкг/кг + CCl ₄	85,3±3,9	49,6±2,5	21,9± 1,1** p<0,001	13,9±1,1** p<0,01	68,3±5,7 p<0,001

* - достоверность различий с данными контрольной группы;

** - достоверность различий с данными группы животных с экспериментальным гепатитом.

5

Как следует из результатов, представленных в таблице 28, введение животным CCl₄ приводило к увеличению содержания в печени ТГ и снижению количества холестерина. Исследуемые соединения нормализовали содержание СХС и снижали количество ТГ.

10 При этом наблюдалось повышение содержания фосфолипидной фракции при применении исследуемых веществ.

Таблица 28

15 Влияние соединений общей формулы (I) на изменение липидного состава печени крыс с экспериментальным гепатитом

Группы животных	Липидный состав (в % от общих липидов)		
	Фосфолипиды	СХС	Триглицериды
Контроль, интактный	21,3±0,9	23,6±1,2	23,9±1,2
CCl ₄ - 4 дня	20,5±1,1	17,4±0,7* p<0,001	40,5±2,5* p<0,001
Легалон + CCl ₄	19,7±1,1	15,0±0,4** p<0,01	44,1±1,9
Соединение III, 0,5 мкг/кг + CCl ₄	23,8±1,0** p<0,05	18,9±0,7	35,3±0,7

Соединение III, 0,05 мкг/кг+ CCl ₄	24,4±0,7** p<0,05	20,3±0,8** p<0,05	35,5±1,1
Соед-ние XLIV, 0,5 мкг/кг + CCl ₄	26,1±0,6** p<0,001	20,6±0,8** p<0,05	33,9±1,0** p<0,05
Соед-ние XLIV, 0,05 мкг/кг+ CCl ₄	22,8±0,9	18,0±0,8	39,9±1,7

* - достоверность различий по отношению к контрольной группе;

** - достоверность различий по отношению к группе животных с экспериментальным гепатитом (CCl₄).

5

В таблице 29 приведены данные изменения конечного продукта ПОЛ - МДА, в сыворотке крови и в печени при поражении CCl₄ и введении исследуемых соединений. Токсическое поражение печени сопровождалось повышением содержания МДА как в сыворотке, так и в печени. Обработка животных Легалон и соединениями общей формулы (I) приводила к нормализации количества МДА в исследованных тканях.

10

Таблица 29

15

Влияние соединений общей формулы (I) на изменение содержания конечных продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови и в печени крыс с экспериментальным гепатитом

Группы животных	Доза соединений, мг/кг	Сыворотка, МДА, нмоль/л	Печень, МДА, нмоль/л
Контроль, интактные	-	5,60±0,60	3,49±0,16
CCl ₄ - 4 дня	-	7,03±0,38* p<0,05	5,98±0,29* p<0,001
Легалон + CCl ₄	30,0	5,58±0,15** p<0,01	4,17±0,31** p<0,001

Соединение III + CCl ₄	0,50	5,77±0,15** p<0,05	4,60±0,52** p<0,05
Соединение III + CCl ₄	0,05	5,86±0,70	5,00±0,15** p<0,05
Соединение XLIV + CCl ₄	0,50	4,72±0,57** p<0,01	3,51±0,30** p<0,001
Соединение XLIV + CCl ₄	0,05	5,82±0,38** p<0,05	4,47±0,45** p<0,05

* - достоверность различий с результатами контрольной группы;

** - достоверность различий с результатами группы животных с экспериментальным гепатитом (CCl₄).

5

Таким образом, исследуемые соединения общей формулы (I) обладали выраженным антиоксидантным и липидрегулирующим действием, сравнимым с эффектом препарата сравнения Легалон, а по ряду показателей превосходя его. При этом следует отметить, что исследованные соединения применялись в дозах на 2-3 порядка ниже, чем Легалон.

10

ПРИМЕР 39

ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

15

СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I)

Гиполипидемическую активность соединений общей формулы (I) изучали на модели экспериментальной гиперлипидемии [Arichi H., Kumura H.O. / Effects of stibens compounds of roots of polygonum cuspidatum on the lipid metabolism.// Chem. Pharm. Bull.- 1982.- vol. 30.- № 5.- pp.1766-1767] у беспородных крыс-самцов с исходной массой 220-250 г, получавших в течение 10 дней внутрижелудочно на фоне стандартного рациона масляную суспензию, содержащую 10% холестерина и 1% холевой кислоты (из расчета 1 мл суспензии на 100 г массы тела). Каждая группа животных содержала по 10 крыс. Исследуемые соединения: III, V, VI, VII, VIII, IX, X, XIII, XXVIII, XLVII, L, LI вводили животным перорально в дозах 50 и 500 мкг/кг в течение последних четырех

20

25

дней эксперимента. В качестве препарата сравнения использовали никотиновую кислоту, которую вводили животным в течение 10 дней на фоне атерогенной нагрузки в дозе 10 мг/кг. Образцы крови брали на анализ через 18 часов после последнего введения изучаемых веществ, в течение которых у крыс отнимали пищу.

Определяли следующие показатели: холестерин общий (ХС-общий), холестерин липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП), холестерин липопротеидов низкой плотности и липопротеидов очень низкой плотности (ХС-ЛПНП и ХС-ЛПОНП), триглицериды (ТГ).
10 Содержание ХС в сыворотке крови определяли методом Илька [Биохимические исследования в клинике.- под. ред. А.А. Покровского.- М.- Медицина.- 1969.- с. 300-302], ХС-ЛПВП оценивали в супернатанте после гепарин-марганцевой преципитации ЛПНП+ЛПОНП [Титов В.Н., Бренер Е.Д., Халтаев Н.Г., Задоя А.А.,
15 Творогова М.Г. / Метод и диагностическая значимость исследования содержания холестерина в α -липопротеидах.// Лаб. дело.- 1979.- №1.- с. 36-41]. Определение ХС-ЛПНП проводили путем расчета по формуле, представленной в работе Friedewald W.T. et al [Friedewald W.T., Levy K.J., Leus R. /Fat transshort in
20 lipoproteins an integrated approach to mechanism and disorders.// New Eugl.J.Med.- 1967.- vol. 276.- p.32].

Для оценки влияния исследуемых соединений на соотношение атерогенных и антиатерогенных липопротеидов плазмы крови вычисляли холестериновый индекс (K_{xc}) по формуле, приведенной в
25 работе [Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липопротеиды, дислипидопротеидемии и атеросклероз.- М.- Медицина.-1984.-165 с.].

Содержание ТГ в сыворотке крови определяли общепринятым методом [Friedwald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. /Estimation of concentration of low-density lipoprotein cholesterol in
30 plasma, without use of preparative ultracentrifuge.// Clin. Chem.- 1972.- vol. 18.- pp. 499-502].

Введение животным жировой суспензии сопровождалось достоверным повышением содержания ХС в сыворотке крови за счет атерогенных фракций липопротеидов (ЛПНП и ЛПОНП) на фоне
35 снижения количества антиатерогенной фракции - ЛПВП. Индекс атерогенности возрос в 3 раза. Отмечалось также значительное

повышение ТГ в сыворотке крови (таблица 30). При введении животным изучаемых соединений (таблица 31) в обеих дозах отмечалось снижение общего холестерина по сравнению с животными с атерогенной нагрузкой на 10-26%, за счет снижения ХС-ЛПНП и ЛПОНП, при достоверном повышении ХС-ЛПВП на 20-100%. Выявлено снижение холестеринавого индекса атерогенности $K_{\text{хс}}$ при введении всех соединений практически до контрольных значений. Количество ТГ в крови животных уменьшалось до контрольных значений при введении препаратов.

10

Таблица 30

Влияние никотиновой кислоты на содержание холестерина и триглицеридов в сыворотке крови экспериментальных животных

15

Группы животных Показатели	Контроль 1	Атерогенная Диета 2	Атерогенная диета + никотиновая кислота 3
ХС-общий	68,8±2,3	96,9±10,8* ¹	65,7±3,5
ХС-ЛПВП	37,5±1,0	27,1±1.3	42,1±4,2*** ^{1,2}
ХС-ЛПНП+ ХС-ЛПОНП	30,9±0,9	68,7±4.8*** ¹	25,7±2,8*** ²
Триглицериды	84,9±3,2	146,5±12.9*** ¹	89,4±6,2*** ²
$K_{\text{хс}}$	0,835	2,58*** ¹	0,56*** ²

* - достоверность различий, * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$. Цифрами обозначены группы, по отношению к которым различия достоверны.

20

В качестве примера действия исследуемых соединений на изменение липидного состава крови в таблице 31 представлены результаты влияния одного из соединений общей формулы (I) на

липидный состав крови у животных, получавших атерогенную нагрузку. Показано, что при введении этих соединений наблюдалась нормализация всех исследованных показателей практически до контрольных значений.

Таблица 31

Влияние соединений общей формулы (I) на содержание холестерина и триглицеридов в сыворотке крови экспериментальных животных

Показатели Группы	ХС-общий	ХС-ЛПВН	ХС-ЛПНП+ ХС+ЛПОНП	Триглицериды	К _{хс}
Контроль-1	72,2±2,9	29,6±2,6	42,6±2,7	104,7±8,0	1,44±0,1
Атероген. диета	93,3±3,7***	21,3±1,5*	72,0±4,0***	261,7±11,6***	3,38±0,2***
Соед-е VII, 50 мкг/кг	72,3±4,9** ^A	26,0±1,9	46,3±3,2*** ^A	250,6±12,0	1,78±0,12*** ^A
Соед-е VII, 500 мкг/кг	78,1±3,3*	22,3±2,2	55,8±3,9*** ^A	251,4±12,7	2,5±0,17*** ^A
Соед-е IX, 50 мкг/кг	78,4±4,4* ^A	29,7±3,6* ^A	48,7±4,4*** ^A	241,5±20,2	1,64±0,16*** ^A
Соед-е IX, 500 мкг/кг	72,1±3,9*** ^A	20,1±1,6	52,0±3,4*** ^A	201,8±8,1*** ^A	2,59±0,17*** ^A
Соед-е XIII, 50 мкг/кг	76,3±5,5* ^A	23,9±1,9	52,4±3,9*** ^A	201,2±8,7*** ^A	2,19±0,16*** ^A
Соед-е XIII, 500 мкг/кг	69,3±3,7*** ^A	27,8±2,3* ^A	41,5±2,9*** ^A	190,0±11,7*** ^A	1,49±0,1*** ^A

Соед-е XXVIII, 50 мкг/кг	85,4±4,0	34,6±4,6 ^{*A}	50,8±4,6 ^{***A}	157,5±12,4 ^{***A}	1,47±0,13 ^{***A}
Соед-е XXVIII, 500 мкг/кг	80,7±4,8	47,0±6,9 ^{*A}	33,7±3,4 ^{***A}	204,1±22,1 ^{*A}	0,72±0,07 ^{***A}
Соед-е X, 50 мкг/кг	87,9±7,0	31,8±3,3 ^{*A}	56,1±5,0 ^{*A}	218,7±17,9	1,76±0,16 ^{***A}
Соед-е X, 500 мкг/кг	71,3±2,3 ^{***A}	38,4±4,5 ^{***A}	32,9±2,5 ^{***A}	179,2±18,3 ^{***A}	0,86±0,06 ^{***A}
Соед-е VI, 50 мкг/кг	86,0±5,2	35,7±5,6 ^{*A}	50,3±5,5 ^{*A}	141,2±16,1 ^{***A}	1,41±0,16 ^{***A}
Соед-е VI, 500 мкг/кг	70,8±3,7 ^{***A}	45,8±3,5 ^{***A}	25,0±1,6 ^{***A}	127,2±7,1 ^{***A}	0,55±0,04 ^{***A}
Контроль-2	82,9±5,1	49,3±3,7	33,9±2,9	84,3±5,7	0,68±0,05
Атероген. диета	100,6±4,3 [*]	33,8±2,5 ^{**}	66,8±3,3 ^{***}	157,9±9,0 ^{***}	1,98±0,1 ^{***}
Соед-е XLVII 50 мкг/кг	86,5±3,9 ^{*A}	44,1±1,9 ^{***A}	42,4±1,7 ^{***A}	90,0±7,7 ^{***A}	0,96±0,04 ^{***A}
Соед-е XLVII 500 мкг/кг	90,0±2,4	40,8±4,8	50,8±3,6 ^{***A}	116,7±10,8 ^{*A}	1,27±0,09
Соед-е III, 50 мкг/кг	87,8±2,8 ^{*A}	46,1±2,8 ^{***A}	41,7±3,1 ^{***A}	136,4±9,7	0,9±0,04 ^{***A}
Соед-е III, 500 мкг/кг	86,2±5,6	53,1±6,2 ^{*A}	33,1±2,9 ^{***A}	90,0±6,7 ^{***A}	0,62±0,05 ^{***A}
Соед-е XLIV, 50мкг/кг	84,7±3,0 ^{***A}	47,3±1,1 ^{***A}	37,4±1,1 ^{***A}	85,0±6,3 ^{***A}	0,79±0,02 ^{***A}

Контроль-3	94,1±1,2	45,6±2,5	48,5±2,4	112,1±10,6	1,06±0,03
Атероген. диета	107,7±6,1*	27,6±1,5***	80,1±3,1***	207,1±16,0	2,90±0,16*** ^A
Соед-е V, 50 мкг/кг	103,4±2,8	40,0±3,1*** ^A	63,3±1,9 ^A	181,2±12,2	1,58±0,09*** ^A
Соед-е LI, 50 мкг/кг	99,1±4,5	39,8±1,6*** ^A	59,3±3,5 ^A	132,1±17,4*** ^A	1,49±0,07*** ^A
Соед-е VIII, 50 мкг/кг	98,8±7,2	31,7±2,4	67,1±3,1 ^A	136,8±18,2 ^A	2,12±0,16*** ^A
Соед-е L, 50 мкг/кг	94,1±2,1	31,0±2,1	63,1±2,4 ^A	141,6±12,6*** ^A	2,03±0,09*** ^A

* – различия достоверны по отношению к контрольным группам,

^A – различия достоверны по отношению к группам животных, получавших атерогенный рацион.

5 * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Таким образом, изменения липидного состава сыворотки крови при введении экспериментальным животным исследованных веществ сопоставимы с гиполипидемическим эффектом препарата сравнения –
10 никотиновой кислотой (таблица 30).

ПРИМЕР 40

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ 15 СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I)

Исследования проведены на крысах-самцах Вистар массой 250–300 г. Экспериментальный диабет вызывали однократным внутривенным введением стрептозотоцина (кооп. «Синтез» при ИМБГ
20 АН Украины) в дозе 42 мг/кг крысам, предварительно голодавшим в течение 24 часов с допуском к пище сразу после инъекции. Крыс отбирали в опыт через 2 недели после индукции диабета с уровнем

гликемии 120–180 мг %. В каждой группе в опыте использовали по 12 животных.

Соединения вводили intactным животным и крысам со стрептозотоциновым диабетом внутривенно в течение 4 дней в 5 суточных дозах 50 мкг/кг и 500 мкг/кг в водном растворе из расчета 1 мл на 200 г массы тела. Intactные животные получали соединение III и XLIV, а крысы с индуцированным диабетом – соединение XLIV. Контрольное определение содержания глюкозы в крови проводили в день эксперимента, затем животным вводили 10 исследуемые соединения и лишали пищи. Контрольные животные получали соответствующий объем воды. Эффект оценивали по изменению уровня глюкозы в крови через 2 и 5 часов. Далее животные получали корм и через 24 часа после последнего введения препарата вновь брали кровь для исследования. Кровь брали из 15 хвостовой вены в объеме 0,1 мл. Содержание глюкозы определяли отолуидиновым методом.

Содержание глюкозы рассчитывали в мг% с помощью стандартных растворов глюкозы. Далее определяли степень изменения содержания глюкозы по отношению к исходному количеству для каждого 20 животного, выражая ее в процентах от исходного содержания. Окончательный расчет проводили для каждой группы животных. Каждая группа включала 10 животных.

Таблица 32

25

Влияние двух исследуемых соединений на содержание глюкозы в крови intactных крыс

Условия Опыта Группы	Содержание глюкозы в крови, (мг %)			
	за 2 часа	Через 2 час	Через 5 час	Через 24 час
Контроль – 1	82,6±4,1	58,6±3,2	60,4±2,3	83,8±5,2

Соединение XLIV, 50 мкг/кг	81,2±3,8	60,8±4,0	64,0±3,1	79,9±5,2
Соединение XLIV, 500 мкг/кг	80,8±2,7	64,8±4,2	65,9±3,9	83,7±4,0
Контроль - 2	72,6±4,6	56,8±3,8	65,4±3,3	75,0±3,2
Соединение III, 50 мкг/кг	84,2±6,1	58,5±5,9	70,8±5,5	66,5±3,3
Соединение III, 500 мкг/кг	71,3±4,0	69,9±2,8* ²	72,6±1,5* ²	73,1±3,4

* - достоверность различий по отношению к контролю - 2;

* - $p < 0,05$

5 Как следует из результатов таблицы 32, соединение XLIV не
 влияет на кривую изменений содержания глюкозы в крови интактных
 животных после кратковременного голодания, тогда как соединение
 III, введенное в дозе 500 мкг/кг, предотвращало снижение
 количества глюкозы в крови интактных крыс через 2 часа после
 10 отмены пищи.

Таблица 33

Влияние одного из соединений, соответствующих общей формулы (I) на содержание глюкозы в крови у животных с экспериментальным стрептозотоциновым диабетом

Группы Животных	Контроль	Соединение III 50 мкг/кг	Соединение III 500 мкг/кг
Содержание глюкозы в крови	1	2	3
Исходное содержание, мг%	142,1±9,9	146,9±8,2	145,2±10,6
через 2 часа мг%	114,9±9,3	94,4±5,4	98,8±5,6
% от исходного	80,9±5,1	65,4±4,3*	67,6±3,6*
через 5 часов мг%	80,5±6,1	64,1±5,0	65,1±1,1
% от исходного	56,7±5,0	43,9±4,9	44,9±4,5
через 24 часа мг%	153,9±3,8	122,2±9,2	143,4±10,9
% от исходного	108,4±7,1	83,7±6,6	98,9±10,2

* - значение достоверно отличается от данных контрольной группы, $p < 0,05$.

Данные, приведенные в таблице 33 показывают, что 4-х дневное внутривенное введение соединения III в суточных дозах 50 и 500 мкг/кг приводит к достоверному снижению глюкозы в крови через 2 часа после последнего введения препарата животным.

Гипогликемический антидиабетический эффект сохраняется через 5 часов после введения, однако он менее выражен.

Таким образом, соединения соответствующие общей формуле (I) либо не влияют, либо стабилизируют содержание глюкозы в крови интактных животных и обладают глюкозопонижающей активностью у крыс со стрептозотоциновым диабетом, выраженной в равной степени при применении как в дозе 50 мкг/кг, так и 500 мкг/кг.

Результаты, представленные в примерах 38-40 свидетельствуют, что соединения общей формулы (I) обладают выраженным гепатопротекторным действием. Это действие соединений объясняется тем, что при введении их в организм происходит функциональная перестройка многих центральных систем организма, участвующих в поддержании гомеостаза.

ПРИМЕР 41

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЙ, СООТВЕТСТВУЮЩИХ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЕ (I), НА РОСТ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКИХ ЛЬЮИСА

Эксперименты проводили на мышах-самцах с исходной массой 18-20 г. Каждая группа включала 10 животных. Перевивка опухоли осуществлялась по стандартной методике [Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США./ под ред. Э.П. Софьиной, А.В. Сыркина, А.Голдина, А. Кляйна. - М.- Медицина.- 1980.- 296с.]. Введение соединений II, III, IX, X, XII, XIV, XV, XVI, XVII, XIX, XX, XXI, XXII, XLVII в питьевой воде начинали через 24 часа после перевивки и продолжали до окончания опыта. Оценку влияния соединений на рост карциномы легких Льюиса (LLC) проводили на 12 день эксперимента по изменению объема опухоли, выраженное в мм³.

Данные, представленные в таблице 34, показывают, что все изученные соединения ингибируют рост LLC хотя и в разной степени.

Таблица 34

Влияние соединений общей формулы (I) на рост
карциномы легких Льюиса

Вводимое соединение	Объем опухоли (мм ³)	Процент ингибирования роста
Контроль, интактный	1492±230	-
XXII	985±179	34
XLVII	826±119*	45

Контроль, интактный	2633±275	-
III	1249±168**	53
II	1025±150**	61
IX	2373±323	10
X	1221±209**	54
XII	1299±145**	51
XVII	1367±233**	48
Контроль, интактный	1373±114	-
XXI	1023±207	25
XIX	994±173	28
XX	1148±112	16
Контроль, интактный	2436±260	-
XVI	1076±169**	56
XIV	779±94**	68
XV	889±67**	63

* - достоверность различий по отношению к соответствующему контролю, *- $p < 0,02$; ** - $p < 0,01$.

5 ПРИМЕР 42

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I) НА МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО ЛЬЮИСА

10 А. Изучение антиметастатической активности соединений общей формулы (I)

Исследование проводили на мышах-самках BDF₁ с исходной массой 25-30 г. Каждая группа животных включала 15 особей. Взвесь опухолевой ткани LLC вводили внутримышечно в объеме 0,3
15 мл. В качестве растворителя использовали раствор Хенкса. Исследуемые соединения II, III, IV, IX, X, XII, XXIII и XLIV растворяли в воде и вводили животным перорально в течение 24
суток в дозе 50 и 500 мкг/кг в 0,2 мл растворителя, начиная со
вторых суток после перевивки опухоли. На 25 сутки эксперимента
20 животных забивали, извлекали легкие и фиксировали их в растворе Буэна с применением микроскопа МБС-9, увеличение 8 x 2. Через 24 часа после фиксации производили подсчет метастатических колоний в легких. Расчет индекса метастазирования проводили в соответствии с методическими рекомендациями [Методические

рекомендации по доклиническому изучению средств, обладающих способностью ингибировать процесс метастазирования и повышать эффективность цитостатической терапии злокачественных опухолей. - М.- 1992.- 13с.].

- 5 Выявлено, что исследуемые соединения ингибируют процесс спонтанного метастазирования перевиваемой опухоли LLC в присутствии первичного опухолевого узла в разной степени (от 20 до 70%). В таблице 35 представлены результаты, демонстрирующие высокую антиметастатическую активность исследуемых веществ.
- 10 Критерием активности для антиметастатических препаратов является их способность ингибировать метастазирование на 35%.

Таблица 35

- 15 Антиметастатические свойства соединений общей формулы (I) при пероральном введении мышам-самкам BDF₁ с LLC

Группы	Показатели	Среднее число метастазов	ИММ
Контроль - 1		52,2±5,1	-
Соединение III, 500 мкг/кг		30,1±2,7** ¹	42,0
- « -, 50 мкг/кг		38,5±6,3** ¹	26,0
Контроль - 2		46,9±8,5	-
Соединение XLIV, 50 мкг/кг		42,4±4,5	10,0
- « -, 500 мкг/кг		31,9±3,8* ²	32,0
Соединение II, 50 мкг/кг		44,3±8,0	5,5
- » -, 500 мкг/кг		32,9±4,8* ²	30,0
Соединение VI, 50 мкг/кг		35,5±4,5* ²	24,0
- « -, 500 мкг/кг		39,0±14,0	17,0
Контроль - 3		50,8±6,9	-
Соединение IX, 500 мкг/кг		38,5±5,7* ³	24,0
Соединение X, 500 мкг/кг		34,6±7,2* ³	30,8
Соединение XII, 500 мкг/кг		35,5±4,6* ³	30,1

Соединение XXIII, 500 мкг/кг	31,5±5,8* ³	37,0
---------------------------------	------------------------	------

* - достоверность различий по отношению к соответствующему контролю; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$

5

Б. Оценка антиметастатической активности соединения в условиях хирургического удаления первичного опухолевого узла

Важным свойством соединений является их способность
10 проявлять фармакологическую активность на модели с удалением
первичного опухолевого узла и не снижать терапевтическую
эффективность существующих противоопухолевых препаратов. Этот
факт был продемонстрирован в эксперименте на модели спонтанно
метастазирующей опухоли LLC, перевитой в подушечку лапки мыши,
15 на мышцах-самках линии C57BL/6 массой 20-25 г. Хирургическое
удаление первичного опухолевого узла производили на 13 сутки
после перевивки опухоли. Исследуемые противоопухолевые
соединения вводили по двум схемам:

1 схема - животные получали соединение III с 1-13 сутки
20 эксперимента в дозе 500 мкг/кг (1 группа); Циклофосфан вводили
в/б 2-хкратно до операции с интервалом 96 ч. в дозе 100 мг/кг
(2 группа); сочетанное введение соединения III и Циклофосфана
аналогично введению веществ в 1-й и 2-й группах (3 группа).
Подсчет количества метастазов проводился на 29 сутки
25 эксперимента;

2 схема - животные вводили соединение III с 14 суток
эксперимента (начало введения через 24 часа после операции) по
28 сутки (4 группа). Циклофосфан вводили 2-хкратно после
операции с интервалом 96 ч. в дозе 100 мкг/кг (5 группа);
30 сочетанное введение соединения III и Циклофосфана аналогично
введению веществ в 4-й и 5-й группах (6 группа). Учет
антиметастатической эффективности препаратов проводился на 29
сутки эксперимента.

Результаты эксперимента представлены в таблице 36. Как
35 видно из представленных результатов, соединение III проявлял

антиметастатическую активность на модели с хирургическим удалением первичного опухолевого узла, а при сочетанном применении с Циклофосфаном после удаления опухоли наблюдалось потенцирование фармакологического эффекта и суммация изучаемого феномена при введении двух препаратов до оперативного удаления опухоли.

Таблица 36

Показатели антиметастатической активности соединения III в условиях хирургического удаления первичного опухолевого узла и при сочетанном введении с Циклофосфаном

Опытные группы	Препараты	Частота метастазирования (%)	Ср. число Метастазов	ИММ %
Введение препаратов до операции по 1-й схеме				
Контроль	Физ. раствор	100	34,8±4,9	
1 группа	соединение	100	32,0±11,8	8,0
2 группа	циклофосфан	100	19,5±5,1*	43,9
3 группа	Соед.+циклоф.	100	16±2,4***	52,8
Введение препаратов после операции по 2-й схеме				
Контроль	Физ. раствор	100	37,1±13,2	
4 группа	соединение	100	28,6±8,5	22,9
5 группа	циклофосфан	100	18,0±4,3*	51,5
6 группа	Соед.+циклоф.	100	6,7±0,9*	81,9

В. Сравнительная оценка антиметастатической активности субстанции соединения III и его таблетированной лекарственной формы

Для оценки терапевтической эффективности таблетированной лекарственной формы соединения III (таблетки массой 0,2 г с содержанием 17 мг субстанции препарата и диаметром 6 мм) были проведены исследования на модели спонтанного метастазирования карциномы LLC.

Эксперименты проводились на мышах-самках C57BL/6 массой 20-25 г. Опытные группы включали 8 животных, контрольная - 11. Субстанцию соединения III и лекарственную форму вводили перорально в дозе 500 мкг/кг (из расчета на активное начало) ежедневно, с 1 по 10 сутки эксперимента. Продолжительность эксперимента составляла 24 дня.

Результаты эксперимента представлены в таблице 37. Результаты, представленные в таблице свидетельствуют, что показатели антиметастатической активности субстанции и таблетированной лекарственной формы практически не отличаются между собой.

Таблица 37

Сравнительное изучение терапевтической эффективности субстанции и лекарственной формы соединения III

Группы	Показатели антиметастатической активности			
	Частота метаст. %	Масса опухоли, (г)	Ср. число метастазов	ИИМ %
Контроль	100	13,5 ± 0,9	42,0 ± 7,5	
Субстанция	100	12,9 ± 0,9	22,5 ± 0,9*	46,4
Лек. форма	100	12,9 ± 0,6	18,8 ± 2,7**	55,2

*, *** - достоверность различий по отношению к контролю,
* - $p < 0,05$; *** - $p < 0,001$.

ПРИМЕР 43

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I) НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЖИВОТНЫХ К МИКРОВНЫМ ИНФЕКЦИЯМ

Изучали влияние соединений общей формулы (I) на изменение средней продолжительности жизни экспериментальных животных,

инфицированных *Salmonella* sp.

В эксперименте использованы нелинейные белые мыши обоих полов массой 18-22 г. Соединения III, XLIV и препарат сравнения нуклеинат натрия вводили перорально в течение 3 суток (всего 6 раз) до и после заражения (схема -3, -2, -1, 0, 1, 2, 3, где 0 - день заражения). Для инфицирования использовали суточную культуру *Salmonella* sp., выращенную на агаре Хоттингера. Для приготовления суспензии клеток использовали физиологический раствор. Суспензию клеток *Salmonella* sp. вводили подкожно в дозе 5 x 10⁸ кл/мышь в 0,5 мл.

Испытуемые соединения вводили в дозе 500 мкг/кг, а препарат сравнения - нуклеинат натрия, в дозе 50 мг/кг в 0,5 мл физиологического раствора.

Исследуемые соединения в дозе 500 мкг/кг достоверно увеличивали среднюю продолжительность жизни мышей, инфицированных *Salmonella* sp. (таблица 38), оказывая защитное действие в жестких условиях эксперимента (100% летальность в контрольной группе). Наблюдалось также достоверное повышение выживаемости мышей, получавших III соединение, на 2 сутки эксперимента по сравнению с контрольной группой, а животных, которым вводили XLIV соединение, на первые сутки. При этом установлено, что характер распределения смертельных исходов животных контрольной группы не является нормальным, тогда как под влиянием III и XLIV соединений оно становится таковым, что подтверждает эффективность исследованных соединений.

Защитный эффект исследуемых соединений в отношении бактериальной инфекции был сравним с действием нуклеината натрия, известного стимулятора иммунологических реакций, в том числе фагоцитоза [Лазарева Д.Л., Алехин Е.К. Стимуляторы иммунитета.- 1985.- 286 с.]. При этом эффективная доза исследуемых соединений была на два порядка ниже, чем препарата сравнения.

Таким образом, соединения, соответствующие общей формуле (I) обладают выраженным защитным эффектом против микробной инфекции.

Таблица 38

Влияние исследуемых соединений на резистентность
мышей к *Salmonella* sp.

Группы животных	Количество погибших мышей				
	контроль 1	III соед-ние	Нуклеинат Натрия	контроль 2	XLIV Соед-ние
Сутки после заражения					
1 сутки	1	1	-	6	3* ²
2 сутки	4	1* ¹	-	-	-
3 сутки	1	1	3	-	1
4 сутки	1	2	3	2	-
5 сутки	1	1	1	1	5
6 сутки	2	2	3	-	2
7 сутки	-	2	-	1	1
8 сутки	-	-	1	-	-
СПЖ (сутки)	3,3±0,58	4,5± 0,65*	4,7±0,48*	2,6±0,71	4,0±0,73*

5

СПЖ - средняя продолжительность жизни.

* - достоверность различий по отношению к контрольной группе животных; * - $p < 0,05$.

10 Цифрами обозначены контрольные группы, по отношению к которым различия достоверны.

ПРИМЕР 44

ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЙ, СООТВЕТСТВУЮЩИХ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЕ (I)

15

А. Защитный эффект соединения XLIV при инфекции, вызванной вирусом энцефаломиокардита

Исследования проводили на беспородных мышах обоего пола с
исходной массой 10-11 г. В контрольной и опытных группах
20 использовали по 30 животных. Соединение XLIV и препарат
сравнения Ридостин - индуктор интерферона, вводили однократно,

внутрибрюшинно через 24 часа после заражения мышей вирусом энцефаломиокардита в дозах 30 мкг/кг и 5,0 мг/кг соответственно. Вирус энцефаломиокардита вводили в дозе 100 ЛД₅₀. Противовирусную активность определяли по изменению средней продолжительности жизни (СПЖ) мышей и степени защиты от смертельной вирусной инфекции.

Полученные результаты представлены в таблице 39. Показано, что исследуемое соединение XLIV обладает выраженной противовирусной активностью в дозе на два порядка ниже по сравнению с дозой препарата сравнения.

Таблица 39

Противовирусная активность исследуемого соединения XLIV

Группы животных	СПЖ, дни	Выживаемость, %	Степень защиты, %
Контроль	7,2	13,3	0
Соединение XLIV	12,5*	30,3*	17,0
Ридостин	13,3*	82,0*	68,7

* - достоверность различий по отношению к контрольной группе;

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$

Б. Влияние соединений общей формулы (I) на выраженность экспериментальной гриппозной инфекции у мышей

Исследование проводили на белых беспородных мышях обоего пола массой 8-10 г. Вирус гриппа человека, тип А, штамм Aichi (аллантоисная жидкость), вводили мышам интраназально в дозе 100 ЛД₅₀. Исследуемые соединений III, VI, VIII, XXXIII, XLVII, XLVIII, которые вводили животным перорально в течение 3-х дней до заражения и 10 дней после заражения. В качестве препаратов сравнения использовали Арбидол (специфический препарат) в дозе 100 мг/кг, который вводили за 24 и 2 часа до и 3 дня после заражения, и Тимоген (неспецифический препарат) в дозе 10

мкг/кг, вводимый животным по той же схеме, что и исследуемые соединения. Противовирусную активность определяли по изменению СПЖ мышей и степени защиты от смертельной дозы вирусной инфекции.

- 5 Результаты исследования представлены в таблице 40. Показано, что увеличение СПЖ, выживаемости и степень защиты наиболее выражены при введении VII соединения в дозе 500 мкг/кг. Применение других исследованных соединений в дозе 50 и 500 мкг/кг и Арбидола сопровождалось изменением показателей в равной
10 степени. Действие Тимогена в качестве противовирусного препарата было выражено более слабо.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о выраженном противовирусном действии соединений общей формулы (I) при экспериментальной вирусной инфекции у мышей, вызванной
15 вирусом гриппа человека, тип А.

Таблица 40

Противовирусное действие соединений общей формулы (I) на экспериментальную гриппозную инфекцию у мышей

20

Группы животных, № п/п	СПЖ, дни	Выживаемость %	Степень защиты %
1. контроль -1	5,76	16,7	-
2. арбидол	9,22*	43,4*	26,7
3. тимоген	8,02	30,0	13,3
4. соединение VIII, 50 мкг/кг	9,88* ¹	40,0* ¹	23,3
4. соединение VIII, 500 мкг/кг	14,37** ¹	56,7* ¹	40,0
5. соединение XLVIII, 50 мкг/кг	9,58* ¹	34,5* ¹	17,8
6. контроль - 2	9,1	34,5	-
7. арбидол	13,88* ²	94,7* ²	60,2

8. соединение VI, 50 мкг/кг	11,24 ^{*2}	73,3 ^{*2}	38,8
8. соединение VI, 500 мкг/кг	11,62 ^{*2}	79,3 ^{*2}	44,8
9. соединение III, 50 мкг/кг	10,1	86,6 ^{*2}	52,1
9. соединение III, 500 мкг/кг	11,5 ^{*2}	76,6 ^{*2}	42,2
10. соединение XLVII, 50 мкг/кг	13,0 ^{*2}	83,3 ^{*2}	48,8
10. соединение XLVII, 500 мкг/кг	10,0	79,3 ^{*2}	44,8
11. соединение XXXIII, 50 мкг/кг	9,09	63,3	28,8
11. соединение XXXIII, 500 мкг/кг	11,9	76,6 ^{*2}	76,6

* - достоверность различий по отношению к контрольной группе;

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

5 В. Влияние соединений общей формулы (I) на репродукцию вируса иммунодефицита человека при острой инфекции лимфобластоидных клеток

Исследование проводили на культуре лимфобластоидных клеток человека МТ-4. В эксперименте использовали вирус иммунодефицита человека, тип 1, изолят ВИЧ-1/ИБ17 из коллекции Института вирусологии им. Д.И. Ивановского. Исследуемые соединения общей формулы (I): III, VI, VII, вводили в культуру клеток в концентрациях: 1,0; 0,1 и 0,01 мкг/мл. Препарат сравнения - Азидотимидин, вводили в дозе 0,05 мкМ/мл. Соединения вносили в культуру клеток МТ-4 за 1 час до внесения вируса в дозе 1000 ТЦИД₅₀. Оценку жизнеспособности клеток МТ-4 проводили на 7 день

эксперимента.

Основным параметром эффективности действия исследуемых соединений являлась жизнеспособность клеток.

В предварительных экспериментах было показано, что
5 исследуемые соединения в использованных концентрациях нетоксичны для лимфобластоидных клеток в концентрациях от 1,0 мкг/мл и менее.

Таблица 41

Влияние исследуемых соединений на жизнеспособность клеток
10 МТ-4, инфицированных ВИЧ-1

Группы	Доза Соединений	Жизнеспособность Клеток, %
Неинфицированные клетки - 1	-	90
Инфицированные клетки - 1	-	10-17
Азидотимидин	0,05мкМ/мл	75* ¹
Соединение III	0,01 мкг/мл	18
- « -	0,1 мкг/кл	39* ¹
- « -	1,0 мкг/мл	68* ¹
Неинфицированные клетки - 2	-	88
Инфицированные клетки -2	-	24
Азидотимидин	0,01 мкг/мл	72* ²
Соединение VI	0,01 мкг/мл	45* ²
- « -	0,1 мкг/мл	49* ²
- « -	1,0 мкг/мл	54* ²
Соединение VII	0,01 мкг/мл	34
- « -	0,1 мкг/мл	49* ²
- » -	1,0 мкг/мл	51* ²

* - достоверность различий по отношению к соответствующей группе инфицированных клеток, * - $p < 0,01$.

Результаты, представленные в таблице 41, показывают, что исследуемые соединения обладают защитным эффектом, выраженным в разной степени, от цитодеструктивного действия ВИЧ-1 в концентрациях 1,0 и 0,1 мкг/мл. Причем влияние соединения III на сохранение жизнеспособности клеток было сопоставимо с действием препарата сравнения - Азидотимидина.

10

ПРИМЕР 45

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I) НА АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

15

Эксперименты проводились на мышах-самках C57BL/6 с перевитой внутримышечно карциномой LLC. Активность нейтрофилов измерялась на 11 и 14 сутки.

Экспериментальные животные были разделены на 4 группы:

- 20 контроль - животные с опухолью LLC, 10 животных;
животные с опухолью LLC + соединение III в дозе 500,0 мкг/кг в течение 10 дней, 8 животных;
животные с опухолью LLC + Циклофосфан 5-тикратно в дозе 20,0 мг/кг (через 48 часов) в течение 10 дней, 8 животных;
25 соединение III и Циклофосфан по вышеописанной схеме, 8 животных.

Продолжительность эксперимента составила 14 дней.

В таблице 42 представлены результаты изучения активности
30 нейтрофилов у животных экспериментальных групп.

Таблица 42

Изменение активности нейтрофилов у мышей C57/BL/6 с LLC при совместном и раздельном введении соединения III и Циклофосфана

5

Опытные группы	Процент активных нейтрофилов		
	Фон	11 сутки	14 сутки
Контроль	22,4±3,5	13,0±3,0	16,9±1,8
Соединение III	20,1±2,7	9,3±1,7	15,3±4,3
Циклофосфан	21,5±3,4	7,6±2,0	20,0±6,0
Соединение III + Циклоф	21,9±4,2	20,8±5,4	26,0±3,4*

* – достоверность отличий по отношению к контролю, $p < 0,05$.

10 Показано, что развитие карциномы LLC сопровождается снижением числа активных форм нейтрофилов в периферической крови экспериментальных животных. Группа животных, получавших сочетано
соединение III и циклофосфан, характеризовалась существенно
более высоким уровнем активности нейтрофилов по сравнению с
15 контрольными животными.

ПРИМЕР 46

20 ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I) НА АКТИВНОСТЬ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГОВ

Изучали изменение активности перитонеальных макрофагов (ПМ) под влиянием исследуемых соединений.

25 Эксперименты проводили на беспородных белых мышах-самцах с исходной массой 20-22 г, в каждой группе было по 10 животных. Соединения III, VI, XLIV растворяли в физиологическом растворе (ФР). Исследуемые соединения вводили животным перорально в течение 3 дней в дозах 50 и 500 мкг/кг. Животные контрольной
30 группы получали равный объем ФР. Мышей забивали через 20 часов после последнего введения соединений, брюшную полость промывали 1,5 мл раствора Хенкса, содержавшего 5 ед./мл гепарина. Смыва

0,1 мл, инкубировали в течение 30 мин при 37°C с 0,1 мл 0,2% раствора нитросинего тетразолия (НТС), затем делали мазки. Ядра докрашивали 0,1% раствором нейтральным красным. Результаты выразили в процентах активных клеток [Климов В.В., Коловкина Т.В. /Тест восстановления нитросинего тетразолия, стимулированный пирогеналом.// Лаб. дело-1982- №10- с.624-625]. Степень активности ПМ оценивали по количеству включений восстановленного НТС (формаза) в баллах:

- 0 - нет включений формаза, неактивные ПМ ;
- 1 - единичные включения формаза;
- 2 - включения заполняют до 1/3 цитоплазмы ПМ;
- 3 - включения заполняют 1/2 цитоплазмы ПМ;
- 4 - включения заполняют всю цитоплазму.

Таблица 43

Изменение активности перитонеальных макрофагов под влиянием соединений общей формулы (I)

Группы Животных	Активность макрофагов, %			
	0	1	2	3
Контроль	25,3±4,2	35,7±3,6	32,6±3,9	6,4±1,4
Соединение XLIV, 50 мкг/кг	23,9±4,4	37,3±3,4	34,9±5,9	5,4±2,0
Соединение XLIV, 500 мкг/кг	17,4±2,5*	37,3±3,9	35,8±4,4	9,4±2,9*
Соединение III, 50 мкг/кг	11,6±2,8*	27,5±2,5*	44,6±1,9*	15,8±3,3*
Соединение III, 500 мкг/кг	12,8±1,3*	31,3±2,3	46,0±2,6*	10,9±2,1*
Соединение VI, 50 мкг/кг	17,9±1,4*	30,9±3,0	40,3±2,1*	10,4±1,9*

Соединение VI, 500 мкг/кг	20,3±3,4	37,9±3,1	34,0±4,0	7,1±2,0
---------------------------------	----------	----------	----------	---------

*- достоверность различий по отношению к контрольной группе; *-
p<0,01.

5 Результаты таблицы 43 показывают, что исследованные
соединения увеличивают долю активных макрофагов за счет снижения
количества неактивных форм. Причем соединения III это действие
выражено при исследовании обеих доз вещества, тогда как у
соединения XLIV эффект более выражен при использовании дозы 500
10 мкг/кг, а у соединения VI - 50 мкг/кг.

Таким образом, исследованные соединения обладают
способностью увеличивать долю активных форм макрофагов, но в
разных дозах.

15 ПРИМЕР 47

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЯ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I) НА ИЗМЕНЕНИЕ СООТНОШЕНИЯ ПРОСТАЦИКЛИНА И ТРОМБОКСАНА У МЫШЕЙ С КАРЦИНОМОЙ ЛЕГКИХ

20 Опыты проводили на мышах-самцах C57Bl массой 18-20 г.
Перевивку карциномы легких Льюиса (3-я генерация) проводили по
общепринятой методике [Экспериментальная оценка
противоопухолевых препаратов в СССР и США./ под ред. Софьиной
Э.П., Сыпкина З.П., Голдина А., Клайна А. - М.- Медицина.-
25 1980.- 296с.]. Каждой группе включала 8 животных. Соединение III
вводили начиная через 24 часа после перевивки опухоли в питьевой
воде из расчета 500 мкг/кг в сутки.

Определение тромбксана A_2 и простациклина проводили по
методике, описанной в примере 35. На 24 сутки эксперимента
30 животных забивали и определяли исследуемые параметры

Группы животных:

1 группа - контроль интактный.

2 группа - мыши с перевитой карциномой Льюиса.

3 группа - мыши с перевитой карциномой Льюиса + соединение III.

Таблица 44

Изменение метаболизма арахидоновой кислоты у мышей с перевитой карциномой Льюиса под влиянием соединения III

5

Группы	Простациклин	Тромбоксана A_2	Соотношение $\frac{6\text{-кетопГФ}_{1\alpha}}{TXB_2}$
1 группа	$8,9 \pm 0,42$	$5,98 \pm 0,30$	$1,5 \pm 0,05$
2 группа	$4,57 \pm 0,07^{**\kappa}$	$7,60 \pm 0,31^{*\kappa}$	$0,60 \pm 0,03^{**\kappa}$
3 группа	$5,80 \pm 0,75^{*2}$	$7,23 \pm 0,18^{*\kappa}$	$0,80 \pm 0,11^{*2}$

* - достоверность различий между группами: К - контрольная группа 2 - 2-я группа; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

10 Данные, представленные в таблице 44, свидетельствуют, что у мышей с перевитой карциномой Льюиса в 1,4 раза повышено содержание тромбоксана A_2 , в два раза снижено образование простациклина, и соотношение простациклина к тромбоксану A_2 . Введение животным соединения III приводит к повышению у мышей с 15 перевитой карциномой Льюиса образования простациклина и соотношения простациклина к тромбоксану A_2 , а также снижению синтеза тромбоксана A_2 .

ПРИМЕР 48

20 ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I) НА РАЗВИТИЕ ПОСТРЕССОРНЫХ СОСТОЯНИЙ У МЫШЕЙ

Исследования проводили на инбредных мышцах-самцах линии Balb

с исходной массой 16-18 г. В каждой группе использовано по 12 животных. Для развития эмоционально-двигательного стресса использовали модель плавания животных в теплой воде в течение 20 минут. Развитие стресса оценивали по активности естественных киллерных лимфоцитов (НК-клетки) и по функционированию системы интерферона [Сухих Т.Г., Носик Н.Н., Паршина О.В., Ванько Л.В., Меерсон Ф.З., Ершов Ф.И. / Взаимоотношение системы естественной клеточной цитотоксичности и системы интерферона при иммобилизационном стрессе.// Бюлл. exper. биол.- 1984.- № .- с.593-595].

Активность НК-клеток определяли в тесте освобождения H^3 -уридина из меченных клеток-мишеней YAC-1 (клеточная лимфома мыши, поддерживаемая пассажами in vitro во взвеси в среде RPMI-1640 с 10% фетальной сыворотки). В клеточную взвесь в концентрации 1 млн. клеток/мл вносили H^3 -уридин (3-5 мкюри/кл./мл) на 60 мин при встряхивании с интервалом в 15 мин с последующим отмыванием средой.

Источником НК-клеток служили спленоциты мышей, которые получали методом [Nossik N.N., Boregamage S.A., Yershov F.I. / Properties of interferons produced by different cell populations.// Acta microbiologica Hungarica.- 1988.- vol.35.- Iss 4.- pp. 397-403].

При исследовании интерфероновой реакции спленоцитов мышей клетки селезенки помещали в инкубационную среду (среда RPMI1640+10% фетальной сыворотки коров), довели до концентрации $1-3 \times 10^8$ клеток/мл и инкубировали при 37°C в течение 24 часов. В качестве индукторов интерферона были использован вирус болезни Ньюкасла (индукция α -интерферона) и митоген ФГА для индукции γ -интерферона [Nossik N.N., Boregamage S.A., Yershov F.I. / Properties of interferons produced by different cell populations.// Acta microbiologica Hungarica.- 1988.- vol.35.- Iss 4.- pp. 397-403].

Животные были разделены на 4 группы по 36 мышей в каждой.

1 группа - интактные животные, не подвергавшиеся стрессу и получавшие физиологический раствор (ФР).

2 группа - животные, которые были подвергнуты стрессовому

воздействию и получавшие ФР.

3 группа - животные, подвергнутые стрессовому воздействию и получавшие соединение III.

4 группа - животные, подвергнутые стрессу и получавшие
5 соединение XLIV.

Исследуемые соединения в дозе 50 мкг/кг и ФР вводили животным перорально четырехкратно по следующей схеме: в течение 2-х дней до стрессового воздействия (первое и второе введение), за два часа до стресса (третье введение) и через 24 часа после
10 третьего введения (четвертое введение).

Активность НК-клеток и интерфероновый статус определяли в динамике - через 4 часа после стресса, через сутки, а затем на 5, 7 и 10 сутки.

15

Таблица 45

Изменение активности НК-клеток под влиянием
соединений общей формулы (I)

Группы животных	Время после стресса, сутки				
	0,16	1	5	7	10
1. Контроль интактный	81±0,82	79±1,32	79±0,99	76±0,66	80±0,99
2. Стресс	57,3±0,82*** ¹	39±1,48*** ^{1,3}	68,3±1,65	76,5±0,49	71,7±2,46* ¹
3. Стресс + соединение III	68,5±0,99* ^{1,2}	69,3±1,81*** ²	79±1,46	69,3±4,85	77±1,98
4. Стресс + соединение XLIV	69,5±1,32** ²	61,5±2,64* ^{1,2}	71±0,82	67,7±3,95	77,5±1,65

20 *, ** - достоверность различий; цифрами обозначены группы, по отношению к которым различия достоверны;

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$

25

Результаты, представленные в таблице 45, показывают, что введение исследуемых соединений предотвращает снижение активности НК-клеток, вызванное стрессом. Кроме этого, введение животным соединений приводит к норме продукцию α-интерферона и повышает продукцию γ-интерферона (таблица 46).

Таблица 46

Влияние исследуемых соединений общей формулы (I) на продукцию α - и γ -интерферона спленоцитами мышей в постстрессовых условиях

Группы животных	Время после стресса, сутки					
	0	0,16	1	5	7	10
α -интерферон, ед/мл						
Контроль интактный	160	160	80	160	160	160
Стресс	160	10	10	16	32	16
3. Стресс + соединение III	160	10	10	160	160	160
4. Стресс + соединение XLIV	160	10	80	80	100	140
γ -интерферон, ед/мл						
Контроль интактный	40	40	32	40	40	40
Стресс	80	20	40	40	10	10
3. Стресс + соединение III	80	80	32	32	320	80
4. Стресс + соединение XLIV	80	20	320	40	32	32

Продукция интерферона спленоцитами 8 мышей на каждую точку измерения.

Таким образом, у животных, которым вводили исследуемые соединения, последствия стрессовой реакции были менее выражены, чем у мышей, их не получавших.

ПРИМЕР 49

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ ФОРМУЛЫ (I) НА МИТОГЕН-ИНДУЦИРОВАННУЮ БЛАСТТРАНСФОРМАЦИЮ ЛИМФОЦИТОВ

5

Для проведения реакции бласттрансформации использовали лимфоциты человека [Киселева Е.П., Цвейбах А.С., Гольдман Е.И., Пигарева Н.В. /Использование микрометода для изучения бласттрансформации лимфоцитов человека и животных// Иммунология.-1985.-№1.- стр.76-78]. Кровь (10мл) брали в стерильный шприц, содержащий гепарин (конечная концентрация 25 ед/мл) и инкубировали для осаждения эритроцитов (60-90 минут при 37°C) Отбирали слой лейкоцитарной суспензии и подсчитывали количество ядросодержащих клеток. Полученные таким образом

15 клетки инкубировали в течение 72 часов во влажной атмосфере с 5% CO₂, при 37°C в лунках планшетов для иммунологических реакций в среде RPMI-1640, содержащей 15% эмбриональной телячьей сыворотки, 50 мкг/мл Неомицина (объем инкубационной смеси 0,15 мл). В каждую лунку вносили 5×10^5 клеток. Инкубацию проводили

20 в присутствии митогена - фитогемагглютинаина (ФГА) («Sigma») (13,3 мкг/мл) или конканавалина А (Кона) («Sigma») (13,3 мкг/мл) и в его отсутствие; с добавлением исследуемых соединений в разных концентрациях и без них. За 16 часов до окончания инкубации в лунки вносили по 2 мCi H³- тимидина в среде RPMI-

25 1640. После завершения времени культивирования клеточную суспензию в объеме 0,15 мл из каждой лунки переносили на бумажные фильтры FN-8. Фильтры высушивали, отмывали 2 раза по 5 минут физиологическим раствором, затем в 5% ТХУ 2 раза по 60 минут. После высушивания просчитывали радиоактивность проб в

30 сцинтиляторе ЖС-8 на счетчике. Индекс стимуляции рассчитывали как отношение радиоактивности пробы с митогеном к радиоактивности пробы без митогена.

Результаты, представленные в таблицах 47 и 49 свидетельствуют о стимулирующем влиянии вещества XLIV и III на

35 реакцию бласттрансформации лимфоцитов человека. Причем наблюдалось усиление реакции, индуцированной как ФГА так и Кона.

Таблица 47

Влияние соединения XLIV на ФГА-индуцированную бласттрансформацию лимфоцитов человека

№	Концентрация соединения XLIV, Моль/л	Митоген	Радиоактивность, количество импульсов за 20 сек.	Индекс стимуляции
1	Контроль	-	139±51	
		+ФГА	3085±166	22,2
2	10 ⁻⁶	-	261±100	
		+ФГА	3830±286*	14,7
3	10 ⁻⁷	-	300±107	
		+ФГА	2960±210	9,9
4	10 ⁻⁸	-	150±33	
		+ФГА	4414±570*	29,6
5	10 ⁻⁵	-	132±13	
		+ФГА	2999±213	23,2
6	10 ⁻⁴	-	301±103	
		+ФГА	3276±225	10,9

5

Таблица 48

Влияние соединения III на конканавалин А индуцированную бласттрансформацию лимфоцитов человека

№	Концентрация соединения III, Моль/л	Митоген	Радиоактивность, количество импульсов за 20 сек.	Индекс стимуляции
1	Контроль	-	317±88	
		+Кона	941±113	2,97
2	10 ⁻⁸	-	234±36	
		+Кона	849±133	3,63
3	10 ⁻⁷	-	478±35	
		+Кона	1483±67**	3,10
4	10 ⁻⁶	-	408±75	
		+Кона	1922±248**	4,71
5	10 ⁻⁵	-	467±109	
		+Кона	1562±134**	3,34
6	10 ⁻⁴	-	274±28	
		+Кона	1197±97	4,37
7	10 ⁻³	-	330±105	
		+Кона	680±82	2,06

10

Таблица 49

Влияние соединения XLIV на бласттрансформацию лимфоцитов человека

№	Концентрация соединения XLIV, Моль/л	Митоген	Радиоактивность, количество импульсов за 20 сек.	Индекс стимуляции
1	Контроль	-	361±43	
		+КОНА	1061±243	2,94
2	10^{-6}	-	233±54	
		+КОНА	971±44	4,17
3	10^{-7}	-	242±19	
		+КОНА	1786±241*	7,38
4	10^{-8}	-	289±52	
		+КОНА	1963±205*	6,96
5	10^{-5}	-	339±32	
		+КОНА	1695±139*	5,00
6	10^{-4}	-	322±38	
		+КОНА	1259±90	3,91
7	10^{-3}	-	356±51	
		+КОНА	1072±135	3,01

5

Данные, представленные в примерах 41-49, что исследуемые соединения обладают иммуномодулирующей активностью, достоверно ингибируют рост перевиваемой опухоли и процесс ее метастазирования, повышают резистентность животных к микробным и вирусным инфекциям.

10

Все приведенные выше исследования показывают, что соединения настоящего изобретения проявляют вышеуказанную биологическую активность в дозах на 2-3 порядка ниже по сравнению с известными препаратами, использованными для сравнения при практически одинаковой эффективности.

15

Далее представлены примеры лекарственных форм, в которых могут применяться соединения общей формулы (I).

20 ПРИМЕР 50

ПРИМЕРЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ

А. Желатиновые капсулы.

Состав вводимого в капсулу порошка:

Соединение, соответствующее общей формуле (I) -	1-35 мг,
Оксид магния	- 50 мг,
Крахмал	- 100-200 мг.

- 5 Указанные выше ингредиенты смешивают и смесь вводят в твердые желатиновые капсулы в количестве 151-285 мг.

Б. Таблетированная форма.

Таблетированную форму получают, используя приведенные ниже ингредиенты:

Соединение, соответствующее общей формуле (I) -	1-35 мг,
Крахмал картофельный -	100 мг
Поливинилпирролидон -	10 мг
Магния стеарат -	2 мг
Лактоза -	48-82 мг
Аэросил -	5 мг

- 10 Компоненты смешивают и прессуют для образования таблеток весом 200 мг каждая.

В. Аэрозольная форма.

Состав аэрозольной смеси, рассчитанной на 10 приемов:

Соединение соответствующее общей формуле (I) -	10-40 мг
Магния сульфата -	150 мг
Лактоза -	110-140 мг

- 15 Соединение смешивают с наполнителями и помещают в специальное устройство для распыления.

Г. Суппозитории.

В качестве суппозиторной основы могут быть использованы:

основы, не растворимые в воде - масло какао;

- 20 основы, растворимые в воде или смешиваемые с водой - желатино-глицериновые или полиэтиленоксидные;

комбинированные основы - мыльно-глицериновые.

Пример состава суппозитория:

Соединение соответствующее

общей формуле (I) - 1-35 мг

Масло какао - количество необходимое для получения суппозитория.

При необходимости возможно изготовление ректальных,

вагинальных и уретральных суппозиториях с соответствующими наполнителями.

Д. Мази.

В качестве мазевой основы могут быть использованы:

- 5 углеводородные мазевые основы - вазелин белый и желтый (Vaselinum album, Vaselinum flavum), вазелиновое масло (Oleum Vaselini), мазь белая и жидкая (Unguentum album, Unguentum flavum), а в качестве добавок для придания более плотной консистенции твердый парафин и воск;
- 10 абсорбтивные мазевые основы - гидрофильный вазелин (Vaselinum hydrophylicum), ланолин (Lanolinum), козьдкрем (Unguentum leniens);
- мазевые основы, смываемые водой - гидрофильная мазь (Unguentum hydrophylum);
- 15 водорастворимые мазевые основы - полиэтиленгликолевая мазь (Unguentum Glycolis Polyaethyleni), бентонитовые основы и другие.

Пример состава мази:

Соединение, соответствующее общей формуле (I) - 0,1-0,5 г
Вазелин - 10 г

Мази изготавливают по соответствующей технологии.

- 20 Е. Раствор для инъекций.

В качестве растворителя при приготовлении раствора для инъекций могут быть использованы - 0,9% раствор натрия хлорида, дистиллированную воду, раствор новокаина. Форма выпуска - ампулы, флаконы, шприц-тюбики, «insert».

- 25 Состав раствора для инъекций:

Соединение, соответствующее общей формуле (I) - 1-5 мг
Вода дистиллированная - 1-2 мл

Возможно изготовление различных лекарственных форм для инъекций - стерильных растворов, стерильных порошков и таблеток.

ПРИМЕР 51

- 30 ВАРИАНТЫ ПРИМЕНЕНИЯ СОЕДИНЕНИЙ ОБЩЕЙ
ФОРМУЛЫ (I) В СОСТАВЕ КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ
- А. Лосьоны.

Состав лечебно-косметического лосьона:

Соединение, соответствующее общей формуле (I) -	0,1-1 г
Отдушка -	0,5-1,5 г
Спирт этиловый 60°-70° -	100-150 мл

Лосьоны изготавливаются по обычной технологии с показателем рН= 5,5-6,0.

В. Кремы.

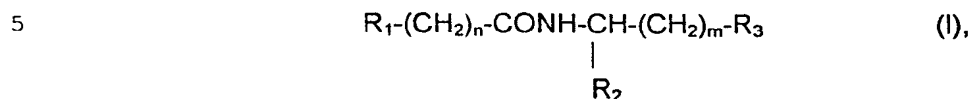
5 Состав лечебно-косметического крема:

Соединение соответствующее общей формуле (I) -	0,1-1 г
Оливковое масло -	8-10 г
Триэтаноламин -	1 г
Глицерин -	3-5 г
Бензоат натрия -	1-2 г
Отдушка -	1-1,5 г
Ланолин -	20-25 г
Вода -	до 100 г

Кремы изготавливаются по соответствующей технологии.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Производные пептидов общей формулы I.



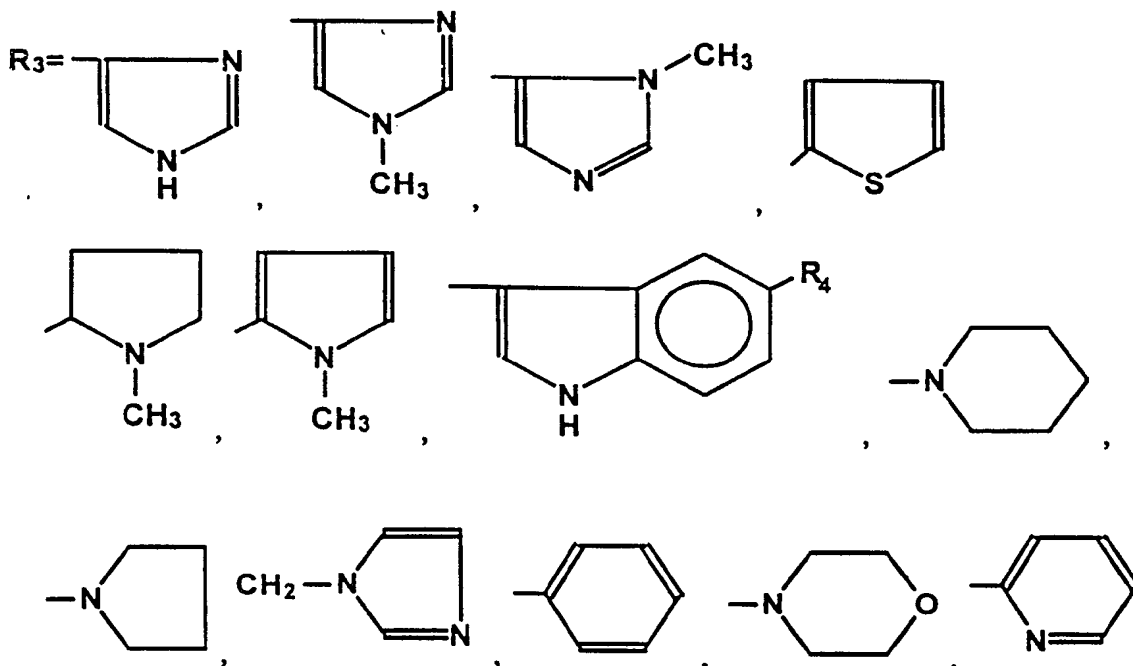
или их фармацевтически приемлемые соли, где R_1 представляет собой атом водорода или C_1-C_3 -углеводородный радикал, замещенный функциональной группой, выбранной из amino-, C_1-C_5 -амидо-, C_1-C_7 -уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1-C_3 углеводородный радикал, одновременно замещенный amino- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1-C_3 -углеводородный радикал, замещенный индольным остатком или 5-6 членной насыщенной или ненасыщенной циклической или гетероциклической группой, причем углеводородный радикал может содержать одновременно аминогруппу свободную или замещенную ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; R_2 представляет собой атом водорода или функциональную группу, выбранную из карбоксила, который может быть этерифицирован; R_3 представляет собой индол или его метильное и/или гидроксильное производное, причем гидроксильная группа может быть ацилирована, алкилирована или аралкилирована; 5-6 членные насыщенные и ненасыщенные циклические и гетероциклические группы, содержащие кислород, серу и/или 1-3 атома азота, или их метильные производные; атом водорода или C_1-C_3 -углеводородный радикал, замещенный функциональной группой, выбранной из amino-, C_1-C_5 -амидо-, C_1-C_7 -уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1-C_3 углеводородный радикал, одновременно замещенный amino- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть

замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты, $n=0-4$, $m=1-5$, при условии, что когда $R_1=-NH_2$, $n=2-3$, $m=1$, $R_2=H$, то R_3 не означает -4-имидазолил, -3-(5-ОМе-индолил), -3-(5-ОН-индолил); когда $R_1=-NH_2$, $n=4-5$, $m=1$, $R_2=H$, то R_3 не означает -4-имидазолил; когда $R_1=-NH_2$, $n=2-3$, $m=1$, $R_2=-COOH$, то R_3 не означает -4-имидазолил; когда $R_1=-NHCOCH_3$, $n=2$, $m=1$, $R_2=H, -COOH$, то R_3 не означает -4-имидазолил; когда $R_1=HOOC-CH(NH_2)-$, $n=2$, $m=1$, $R_2=H, -COOH$, то R_3 не означает -4-имидазолил, -3-индолил, -3-(5-ОН-индолил); когда $R_1=HOOC-CH(NH_2)-$, $n=1$, $m=1$, $R_2=-COOH$, то R_3 не означает -4-имидазолил; когда $R_1=NH_2-CH([CH_2]_kCOOH)-$, $n=0$, $k=1-2$, $m=1$, $R_2=COOH$, то R_3 не означает -4-имидазолил, когда $R_1=NH_2-CH([CH_2]_2COOH)-$, $n=0$, $m=1$, $R_2=H$, то R_3 не означает -4-имидазолил, когда $R_1=CH_3-CONH-CH(COOH)-$, $n=1$, $m=1$, $R_2=H$, то R_3 не означает -4-имидазолил, -3-индолил, -3-(5-ОН-индолил); когда $R_1=CH_3CONH-CH(COOH)-$, $n=2$, $m=1$, $R_2=-COOH$, то R_3 не означает -3-индолил; когда $R_1=CH_3CONH-CH(CH_2COOH)-$, $n=0$, $m=1$, $R_2=H$, то R_3 не означает -4-имидазолил, -3-индолил, -3-(5-ОН-индолил); когда $R_1=Ry-NH-CH(Rx-CH_2)-$, $n=0$, $m=1$, $R_2=-COOH$, где $Rx=-4$ -имидазолил, -3-индолил, $Ry=Вос-, Z-, H-$, то R_3 не означает -4-имидазолил, -3-индолил; когда $R_1=о-, м-, п-C_5H_4N-$, $n=0$, $m=1$, $R_2=H$, то R_3 не означает -3-индолил; -3-(5-ОМе-индолил); когда $R_1=-COOH$, $n=1-2$, $m=1$, $R_2=-COOH$, то R_3 не означает -3-индолил; когда $R_1-CO- = pGlu-$, $n=0$, $m=1$, $R_2=H, -COOH, -COOCH_3$, то R_3 не означает -4-имидазолил; когда $R_1-CO- = pGlu-$, $n=0$, $m=1$, $R_2=COOH$, то R_3 не означает -3-индолил; когда $R_1-CO- = Pro-$, $n=0$, $m=1$, $R_2=H$, то R_3 не означает -4-имидазолил; когда $R_1-CO- = Pro-$, $n=0$, $m=1$, $R_2=COOH$, то R_3 не означает -4-имидазолил, -3-индолил;

2. Производные пептидов по п.1,

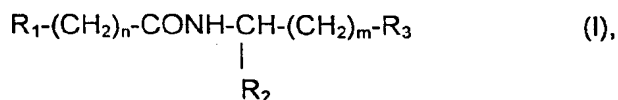
где $R_1=NH_2-$, $n=2\div 5$; $R_1=HOOC-$, $n=1\div 4$; $R_1=Rz-OCO-$, $n=1\div 4$, $Rz=H$ или C_1-C_3 углеводородный радикал; $R_1=HOOC-CH_2-(CH_3)C(Rv)-$, $n=1$, $Rv=H, OH, CH_3$; $R_1=C_6H_5CH_2-OCO-NH-$, $n=2\div 3$; $R_1=Rx-CONH-$, $n=2\div 5$, $Rx=C_1-C_3$ углеводородный радикал; $R_1=CH_3CONH-CH(COOH)-$, $n=1\div 2$; $R_1=CH_3CONH-CH([CH_2]_kCOOH)-$, $n=0$, $k=1\div 2$; $R_1=NH_2-CH([CH_2]_kCOOH)-$, $n=0$, $k=1\div 2$; $R_1=HOOC-CH(NH_2)-$, $n=1\div 2$; $R_1=CH_3OOC-CH(NH_2)-$, $n=1\div 2$; $R_1=(CH_3)_3C-OSONH-CH(COOCH_2-C_6H_5)-$, $n=1\div 2$; $R_1=-4$ -имидазолил, -3-индолил, $n=1$

+3; $R_1 = Rb-CH_2-CH(NHRy)-$, $Rb =$ -4-имидазолил, -3-индолил, $Ry =$ Вос-, Z-, H-, $n=0$; $R_1 = -CH_3$, $n=3-5$; $R_1 =$ цикло- C_6H_{11} , $n=0$; $R_1 =$ o, m, p- C_6H_4N- , $n=0$; $R_1-CO- =$ pGlu-, $n=0$; $R_1-CO- =$ Pro-, гомо-Pro-, $n=0$; $R_2 = -H$, $-COOH$, $-COOR_z$, $R_z = H$ или C_1-C_3 углеводородный радикал,



20 $m=1$; $R_3 = -CH_3$, $m=1-5$; $R_3 = -NH_2$, $m=1-3$; $R_3 = -COOH$, $m=0-3$; $R_3 = -CH(NH_2)-COOH$, $m=0-2$, причем $R_4 = -H$, $-OH$, $-OCH_3$, $-OCH_2C_6H_5$.

3. Способ получения производных пептидов общей формулы I

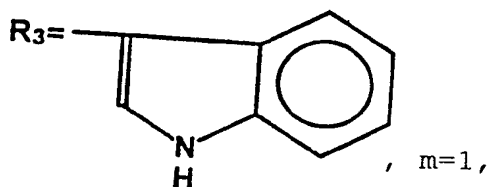


или их фармацевтически приемлемых солей, где R_1 представляет собой атом водорода или C_1-C_3 -углеводородный радикал, замещенный функциональной группой, выбранной из amino-, C_1-C_5 -амидо-, C_1-C_7 -уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1-C_3 углеводородный радикал, одновременно замещенный amino- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1-C_3 -

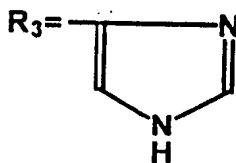
углеводородный радикал, замещенный индольным остатком или 5-6 членной насыщенной или ненасыщенной циклической или гетероциклической группой, причем углеводородный радикал может содержать одновременно аминогруппу свободную или замещенную ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; R_2 представляет собой атом водорода или функциональную группу, выбранную из карбоксила, который может быть этерифицирован; R_3 представляет собой индол или его метильное и/или гидроксильное производное, причем гидроксильная группа может быть ацилирована, алкилирована или аралкилирована; 5-6 членные насыщенные и ненасыщенные циклические и гетероциклические группы, содержащие кислород, серу и/или 1-3 атома азота, или их метильные производные; атом водорода или C_1-C_3 -углеводородный радикал, замещенный функциональной группой, выбранной из амино-, C_1-C_5 -амидо-, C_1-C_7 -уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1-C_3 углеводородный радикал, одновременно замещенный амино- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты, $n=0-4$, $m=1-5$, включающий ацилирование аминогруппы аминосоединения общей формулы $NH_2-CH(R_2)-(CH_2)_m-R_3$ активированным по карбоксильной группе соединением общей формулы $R_1-(CH_2)_n-COX$, где X-активирующая группа.

4. Способ получения производных пептидов общей формулы (I) по п.3, отличающийся тем, что когда $R_1=HOOC-$, $n=1-4$; $R_1=HOOC-CH_2-(CH_2)_3C(R_v)-$, $n=1$, $R_v=H, CH_3$; $R_2=-H$ или $-COOCH_3$, в качестве активированного аминосоединения используют ангидриды дикарбоновых кислот и процесс ведут в органическом растворителе.

5. Способ получения производных пептидов общей формулы (I) по п.3, отличающийся тем, что когда $R_1=-NH_2$, $n=2-3$, $R_2=-H$,



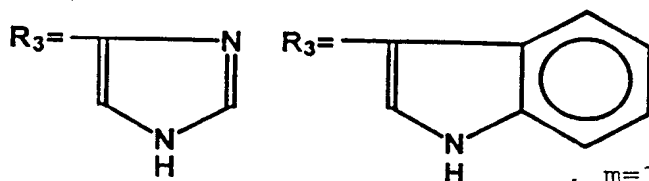
когда $R_1 = \text{NH}_2-$, $n=2-3$ или $R_1 = \text{HOOC}-\text{CH}(\text{NH}_2)-$, $n=1-2$, $R_2 = -\text{COOCH}_3$, $-\text{H}$,



5 , $m=1$,

в качестве ацилирующего агента используют пентафторфениловые эфиры N-бензилоксикарбонил- γ -аминомасляной кислоты, N-бензилоксикарбонил- α -аланина или α -бензилового эфира N-трет.-бутилоксикарбонил-L-глутаминовой или аспарагиновой кислоты и
10 процесс ведут в органическом растворителе с последующим отщеплением от защищенных производных дипептидов N-бензилоксикарбонильной защитной группы и α -бензилового эфира каталитическим гидрогенолизом, с последующим отщеплением N-трет.-бутилоксикарбонильной группы в безводной кислой среде.

15 6. Способ получения производных пептидов общей формулы (I) по п.3, отличающийся тем, что когда $R_1 = \text{CH}_3\text{CONH}-\text{CH}(\text{COOH})-$, $n=1-2$, $R_1 = \text{CH}_3\text{CONH}-\text{CH}([\text{CH}_2]_k\text{COOH})-$, $n=0$, $k=1-2$, $R_1 = \text{CH}_3\text{CONH}-$, $n=3-5$, $R_2 = \text{H}$,



20

, $m=1$, в качестве ацилирующего агента используют п-нитрофенилацетат.

7. Производные пептидов по п.1, обладающие антиоксидантным, антирадикальным, липидрегулирующим, гипогликемическим, противовоспалительным, антиагрегантным, иммуномодулирующим действием, а также способностью индуцировать систему цитохрома P-450, модулировать метаболизм арахидоновой кислоты, гормонов коры надпочечников, снижать содержание и антиген-зависимую
30 секрецию гистамина перитонеальными тучными клетками, модулировать активность макрофагов, натуральных киллеров и систему интерферона (цитокинов).

8. Производные пептидов по п.1, обладающие антиаллергической активностью, а также активностью в отношении
35 устранения признаков и предупреждения астмы и эмфиземы легких.

9. Производные по п.1, обладающие ранозаживляющими свойствами и активностью в отношении устранения признаков поражения кожи и кожных заболеваний, например псориаза, экземы, а также варикозного расширения вен.

5 10. Производные пептидов по п.1, обладающие активностью в отношении предупреждения дисфункциональных расстройств, в том числе угрозы выкидыша, дисфункциональных маточных кровотечений, аменореи и др.

10 11. Производные пептидов по п.1, обладающие антигипоксической и антиатеросклеротической активностью, а также активностью в отношении устранения признаков атеросклероза, ишемической болезни, ожирения, сахарного диабета.

15 12. Производные пептидов по п.1, обладающие гепатопротекторными свойствами и активностью в отношении устранения радиационных поражений, поражений печени, в том числе токсических, гепатита, цирроза, алкоголизма.

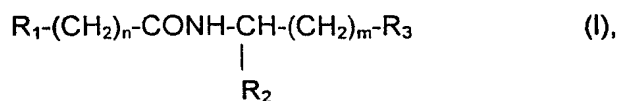
20 13. Производные пептидов по п.1, обладающие способностью предупреждать развитие и устранять признаки геронтологических заболеваний, в том числе катаракты, изменений кожных покровов, старческих психозов, болезней Альцгеймера и Паркинсона.

14. Производные пептидов по п.1, обладающие антибактериальной и противовирусной активностью, в том числе против ВИЧ-инфекции.

25 15. Производные пептидов по п.1, обладающие противоопухолевой и антиметастатической активностью, в том числе при их сочетанном применении с цитостатиками и радиотерапией.

16. Производные пептидов по п.1 в качестве адаптогена для преодоления стрессовых состояний, в том числе тяжелой физической нагрузки.

30 17. Фармацевтическая композиция, содержащая производное пептида общей формулы I



35

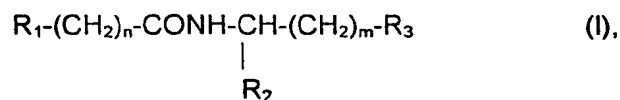
или его фармацевтически приемлемые соли, где R_1 представляет собой атом водорода или C_1 - C_3 -углеводородный радикал, замещенный

функциональной группой, выбранной из amino-, C₁-C₅-амидо-, C₁-C₇-уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C₁-C₃ углеводородный радикал, одновременно замещенный amino- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C₁-C₃-углеводородный радикал, замещенный индольным остатком или 5-6 членной насыщенной или ненасыщенной циклической или гетероциклической группой, причем углеводородный радикал может содержать одновременно аминогруппу свободную или замещенную ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; R₂ представляет собой атом водорода или функциональную группу, выбранную из карбоксила, который может быть этерифицирован; R₃ представляет собой индол или его метильное и/или гидроксильное производное, причем гидроксильная группа может быть ацилирована, алкилирована или аралкилирована; 5-6 членные насыщенные и ненасыщенные циклические и гетероциклические группы, содержащие кислород, серу и/или 1-3 атома азота, или их метильные производные; атом водорода или C₁-C₃-углеводородный радикал, замещенный функциональной группой, выбранной из amino-, C₁-C₅-амидо-, C₁-C₇-уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C₁-C₃ углеводородный радикал, одновременно замещенный amino- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты, n=0-4, m=1-5, в эффективном количестве и фармацевтически приемлемые добавки.

18. Фармацевтическая композиция по п.17, обладающая антигипоксическим, антиоксидантным, антирадикальным, липидрегулирующим, гипогликемическим, антиагрегантным, иммуномодулирующим, ранозаживляющим, противоаллергическим, антиастматическим, противовирусным, антибактериальным,

противоопухолевым, антиметастатическим, адаптогенным действием, способностью индуцировать систему цитохрома Р-450 печени, модулировать метаболизм арахидоновой кислоты, гормонов коры надпочечников, снижать содержание и антигензависимую секрецию гистамина тучными клетками, модулировать активность макрофагов, натуральных киллеров, систему интерферона (цитокинов), а также предупреждать выкидыши и дисфункциональные маточные кровотечения, проявления сахарного диабета, ожирения, ишемической болезни, токсических поражений печени, гепатита, цирроза, алкоголизма, радиационных поражений, стрессовых состояний, способностью предупреждать развитие и устранять признаки геронтологических изменений.

19. Косметическое средство, содержащее производное пептида общей формулы I

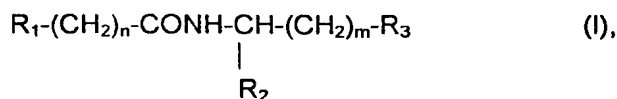


или его косметически приемлемые соли, где R_1 представляет собой атом водорода или C_1-C_3 -углеводородный радикал, замещенный функциональной группой, выбранной из amino-, C_1-C_5 -амидо-, C_1-C_7 -уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1-C_3 углеводородный радикал, одновременно замещенный amino- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1-C_3 углеводородный радикал, замещенный индольным остатком или 5-6 членной насыщенной или ненасыщенной циклической или гетероциклической группой, причем углеводородный радикал может содержать одновременно аминогруппу свободную или замещенную ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; R_2 представляет собой атом водорода или функциональную группу, выбранную из карбоксила, который может быть этерифицирован; R_3 представляет собой индол или его метильное и/или гидроксильное производное, причем гидроксильная группа может быть ацилирована,

алкилирована или аралкилирована; 5-6 членные насыщенные и ненасыщенные циклические и гетероциклические группы, содержащие кислород, серу и/или 1-3 атома азота, или их метильные производные; атом водорода или C₁-C₃-углеводородный радикал, замещенный функциональной группой, выбранной из amino-, C₁-C₅-амидо-, C₁-C₇-уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C₁-C₃ углеводородный радикал, одновременно замещенный amino- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты, n=0-4, m=1-5, в эффективном количестве и косметически приемлемые добавки.

20. Косметическое средство по п.19, обладающее антиоксидантным, липидрегулирующим, иммуномодулирующим, ранозаживляющим, противоаллергическим, противовоспалительным, антиастматическим, противовирусным, антибактериальным, противоопухолевым действием, а также способностью модулировать метаболизм арахидоновой кислоты, снижать содержание и антигензависимую секрецию гистамина тучными клетками, модулировать активность макрофагов, натуральных киллеров, систему интерферона (цитокинов), а также эффективное при псориазе, экземе, варикозном расширении вен, ожирении, радиационных поражениях, способностью предупреждать развитие и устранять признаки геронтологических изменений.

21. Применение производных пептидов общей формулы I,



30

когда R₁=NH₂-, n=2-3, R₁=NH₂-CH(COOH)-, n=2, R₁=CH₃CONH-CH(COOH)-, n=1, R₁=CH₃CONH-CH(CH₂COOH)-, n=0, R₁-CO-=pGlu, n=0, R₂=H, когда R₁=NH₂-CH(COOH)-, n=1-2, R₂=COOH,

35

, m=1, когда R₁=NH₂-, n=2-3, R₁=NH₂-CH(COOH)-, n=2, R₂=H,

, $m=1$, где $R_4 = -H, -OH, -OCH_3, -OCH_2C_6H_5$,

5 в качестве средств, обладающих иммуномодулирующим и антирадикальным (за исключением соединений β -аланилгистамин, γ -аминобутирилгистамин), антигипоксическим, антиоксидантным *in vivo*, липидрегулирующим, гипогликемическим, противовоспалительным, антиагрегантным действием, а также способностью
10 индуцировать систему цитохрома P-450, модулировать метаболизм арахидоновой кислоты, гормонов коры надпочечников, снижать содержание и антигензависимую секрецию гистамина тучными клетками, модулировать активность макрофагов, натуральных киллеров и систему интерферона (цитокинов).

15 22. Применение производных пептидов по п.21 в качестве средств, обладающих антиаллергической активностью (за исключением соединения γ -L-глутамилгистамин), а также активностью в отношении устранения признаков и предупреждения астмы и эмфиземы легких.

20 23. Применение производных пептидов по п.21, обладающих ранозаживляющими свойствами (кроме соединений β -аланилгистамин, γ -L-глутамилгистамин), и активностью в отношении устранения признаков поражения кожи, например псориаза, экземы, а также варикозного расширения вен.

25 24. Применение производных пептидов по п.21 в качестве средств, обладающих активностью в отношении предупреждения дисфункциональных расстройств, в том числе угрозы выкидыша, дисфункциональных маточных кровотечений, аменореи и др.

30 25. Применение производных пептидов по п.21 в качестве средств, обладающих антигипоксической и антиатеросклеротической активностью, а также активностью в отношении устранения признаков атеросклероза, ишемической болезни, ожирения, сахарного диабета.

35 26. Применение производных пептидов по п.21 в качестве средств, обладающих гепатопротекторными свойствами и активностью в отношении устранения радиационных поражений, поражений печени, в том числе токсических, гепатита, цирроза, алкоголизма.

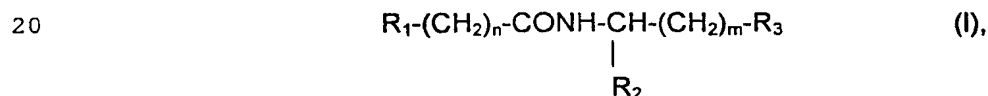
27. Применение пептидов по п.21, в качестве средств, обладающих способностью предупреждать развитие и устранять признаки геронтологических изменений, в том числе катаракты, изменений кожных покровов, старческих психозов, болезней Альцгеймера и Паркинсона.

28. Применение производных пептидов по п.21 в качестве средств, обладающих антибактериальной и противовирусной активностью, в том числе против ВИЧ-инфекции.

29. Применение производных пептидов по п.21 в качестве средств, обладающих противоопухолевой и антиметастатической активностью, в том числе при их сочетанном применении с цитостатиками и радиотерапией.

30. Применение производных пептидов по п.21 в качестве адаптогена для преодоления стрессовых состояний, в том числе тяжелой физической работы.

31. Способ лечения или профилактики заболеваний, включающий введение теплокровным животным или человеку, нуждающимся в таком лечении, производного пептида общей формулы I



или его фармацевтически приемлемой соли, где R_1 представляет собой атом водорода или C_1-C_3 -углеводородный радикал, замещенный функциональной группой, выбранной из amino-, C_1-C_5 -амидо-, C_1-C_7 -уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1-C_3 углеводородный радикал, одновременно замещенный amino- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1-C_3 -углеводородный радикал, замещенный индольным остатком или 5-6 членной насыщенной или ненасыщенной циклической или гетероциклической группой, причем углеводородный радикал может содержать одновременно аминогруппу свободную или замещенную ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; R_2

представляет собой атом водорода или функциональную группу, выбранную из карбоксила, который может быть этерифицирован; R_3 представляет собой индол или его метильное и/или гидроксильное производное, причем гидроксильная группа может быть ацилирована, алкилирована или аралкилирована; 5-6 членные насыщенные и ненасыщенные циклические и гетероциклические группы, содержащие кислород, серу и/или 1-3 атома азота, или их метильные производные; атом водорода или C_1 - C_3 -углеводородный радикал, замещенный функциональной группой, выбранной из amino-, C_1 - C_5 -амидо-, C_1 - C_7 -уретано- или карбоксильной групп, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты; или C_1 - C_3 углеводородный радикал, одновременно замещенный amino- и карбоксильной группой, причем карбоксильная группа может быть этерифицирована, а аминогруппа может быть замещена ацильным заместителем или эфиром угольной кислоты, $n=0-4$, $m=1-5$, в эффективном количестве и фармацевтически приемлемых добавок.

32. Способ лечения или профилактики по п. 31, в котором заболевания выбирают из аллергических, воспалительных, бронхиальной астмы, эмфиземы легких, псориаза, экземы, варикозного расширения вен, дисфункциональных расстройств, угрозы выкидыша, маточных кровотечений, атеросклероза, ишемической болезни, ожирения, сахарного диабета, инфекционных (вирусных и бактериальных), онкологических, гепатитов, цирроза печени, алкоголизма, а также радиационных поражений, поражений печени, в том числе токсических, геронтологических изменений.

30

35